

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Fakulta rybnářství a ochrany vod

Výzkumný ústav rybnářský a hydrobiologický

Bakalářská práce
Hormonální stimulace ovulace
amura bílého
(Ctenopharyngodon idella)

Autor: Martin Musil

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Peter Podhorec, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: Prof. Ing. Jan Kouřil, Ph.D.

Studijní program a obor: B4103 Zootechnika, Rybnářství

Forma studia: Prezenční

Ročník: 3.

České Budějovice, 2017

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury. Prohlašuji, že, v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě, případně v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných FROV JU. Zveřejnění probíhá elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne

Podpis studenta: _____

Martin Musil

Poděkování:

Tímto bych velmi rád poděkoval vedoucímu mé práce Mgr. Petrovi Podhorcovi, Ph.D. a konzultantovi prof. Ing. Janu Kouřilovi, Ph.D. za jejich trpělivost a odbornou pomoc při vypracování této bakalářské práce. Dále bych chtěl poděkovat všem pracovníkům Rybářství Hodonín s.r.o. za jejich pomoc při společném experimentu. Největší poděkování patří mé rodině, která mě neustále podporuje při mém dosavadním studiu. V závěru chci taktéž poděkovat mé nejlepší kamarádce P. Vachoutové, za její podporu a povzbuzení v práci.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Fakulta rybářství a ochrany vod
Akademický rok: 2014/2015

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Martin MUSIL**
Osobní číslo: **V13B054P**
Studijní program: **B4103 Zootechnika**
Studijní obor: **Rybářství**
Název tématu: **Hormonální stimulace ovulace amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*)**
Zadávací katedra: **Ústav akvakultury a ochrany vod**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Cíl práce

Optimalizace hormonální stimulace ovulace amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) na základě využití syntetických liberínů s nebo bez inhibitoru dopaminu.

Hormonální stimulace ovulace amura bílého je nezbytným předpokladem získání dostatečného množství násadového materiálu pro zarybnění volných vod. Metoda umělého výtěru je založena na indukci finálního zrání oocytů vlivem aplikovaných exogenních hormonů (gonadotropinů nebo liberínů). Inovativní podstatou předloženého tématu je optimalizace hormonálního ošetření na základě využití syntetických liberínů s nebo bez přídavku inhibitoru dopaminu, podložená analýzou hladiny luteinizačního hormonu v krvi a plodnostními charakteristikami ošetřených ryb.

Metodický postup zpracování tématu bakalářské práce:

A. Vypracování detailního literárního přehledu

1. Neuroendokrinní regulace reprodukce ryb
2. Metody a postupy hormonální indukce ovulace u kaprovitých (Cyprinidae)
3. Hormonální indukce ovulace u amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*)

B. Umělá reprodukce

Environmentální a hormonální indukce ovulace v kontrolovaných podmínkách rybí líhně v Hodoníně. Vliv dvou hormonálních preparátů (GnRH, GnRH s Metoclopramidem) na sekreci luteinizačního hormonu, procentuální úspěšnost vytřených jikernaček a kvalita jiker.

C. Vypracování bakalářské práce

Rozsah grafických prací: 10 - 15 stran

Rozsah pracovní zprávy: 30 - 50 stran

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná

Seznam odborné literatury:

Legendre, M., Linhart, O., Billard, R., 1996: Spawning and management of gametes, fertilized eggs and embryos in Siluroidei. *Aquatic Living Resources*, 9, 59-80.

Levavi-Zermonsky, B., Yaron, Z., 1986: Changes in gonadotropin and ovarian steroids associated with oocytes maturation during spawning induction in the carp. *General and comparative endocrinology*, 62, 89-98.

Mañanós, E., Duncan, N., Mylonas, C., 2009: Reproduction and control of ovulation, spermiation and spawning in cultured fish. *Methods in reproductive aquaculture. Marine and Freshwater Species*, CRC Press, Boca Raton, 3-80.

Mylonas, C.C., Fostier, A., Zanuy, S., 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 165: 516-534.

Mylonas, C. C., Zohar, Y., 2007. Promoting oocyte maturation, ovulation and spawning in farmed fish. *The Fish Oocyte*, 437-474.

Nagahama, Y., Yamashita, M., 2008. Regulation of oocyte maturation in fish. *Dev. Growth Diff.*, 50: 195-219.

Podhorec, P., Kouril, J., 2009. Induction of final oocyte maturation in Cyprinidae fish by hypothalamic factors: a review, *Vet. Med.* 54: 97-110.

Yaron, Z., Bogomolnaya, A., Drori, S., Biton, I., Aizen, J., Kulikovsky, Z., Levavi-Sivan, B., 2009. Spawning induction in the carp: Past experience and future prospects - A Review. *Isr. J. Aquac.-Bamidgeh*, 61: 5-26.

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Peter Podhorec, Ph.D.


Ústav akvakultury a ochrany vod

Konzultant bakalářské práce: prof. Ing. Jan Kouřil, Ph.D.

Ústav akvakultury a ochrany vod

Datum zadání bakalářské práce: 17. srpna 2015

Termín odevzdání bakalářské práce: 6. května 2016


prof. Ing. Otomar Linhart, DrSc.
děkan

L.S.


Ing. Jan Mráz, Ph.D.
ředitel

V Českých Budějovicích dne 29. března 2016

Obsah

1. Úvod	8
2. Literární přehled	10
2.1. Amur bílý (<i>Ctenopharyngodon idella</i> – Valenciennes, 1844).....	10
2.1.1. Taxonomické zařazení	10
2.1.2. Bionomie druhu.....	11
2.1.3. Zeměpisné rozšíření	12
2.1.4. Přirozená reprodukce	13
2.1.5. Nároky na chov	15
2.2. Neuroendokrinní regulace reprodukce ryb	18
2.2.1. Reprodukce ryb	18
2.2.2. Hormonální řízení ovulace ryb	19
2.2.3. Ovulace	22
2.2.4. Umělá reprodukce u amura bílého	23
3. Materiál a metodika	29
3.1. Podmínky pokusu	29
3.1.1. Experimentální ryby.....	29
3.1.2. Výlov a transport experimentálních ryb.....	29
3.1.3. Selektce a přechování experimentálních ryb.....	29
3.2. Použité chemické přípravky	30
3.2.1. Hormonální přípravky.....	30
3.2.2. Další chemické přípravky	31
3.3. Umělý výtěr	32
3.3.1. Hormonální injekce.....	32
3.3.2. Odběr krve.....	32
3.3.3. Samotný umělý výtěr	33

3.4. Zpracování výsledků	33
4. Výsledky	35
4.1. Hladiny LH	35
4.2. Plodnostní charakteristiky	35
5. Diskuse	39
6. Závěr	44
7. Přehled použité literatury	45
8. Seznam zkratek	56
9. Seznam příloh	57
10. Přílohy	58
11. Abstrakt	64
12. Abstract	65

1. Úvod

Čeď Cyprinidae je jednou z nejrozšířenějších skupin sladkovodních ryb, vyskytujících se v Severní Americe, Africe a Eurasii. Tato čeď zahrnuje 2 010 druhů, které řadíme mezi 210 rodů (Nelson, 2006). Abychom mohli hovořit o udržitelnosti produkce Cyprinidae, a to jak z hlediska programů ochrany (Kaminski a kol., 2004) nebo akvakulturní produkce (Mikolajczyk a kol., 2004), je základním požadavkem zvládnutí úspěšného řízení všech fází umělého rozmnožování. Mnoho rybních druhů chovaných v zajetí, vykazuje určitou formu reprodukční dysfunkce (Peter a kol., 1988; Brzuska, 1999; Kouřil a kol., 2011). U kaprovitých ryb se tato dysfunkce převážně projevuje nepřítomností konečného zrání oocytů (Sokolowska – Mikolajczykem a Mikolajczykem, 1991; Yaron, 1995; Mananos a kol., 2009).

V této práci se zaměřuji na umělou reprodukci amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*), který je v České republice nepůvodním druhem kaprovitých ryb (Cyprinidae). Do bývalého Československa, konkrétně pak na Třeboňsko, byl dovezen roku 1961 z evropské části Ruska, z farmy Gorjačyj Ključ (Krasnodarská oblast, severně od Černého moře); (Putschögl, 1973). Důvodem introdukce amura byla především jeho očekávaná biomeliorační funkce (Krupauer, 1965; Mareš a kol., 1970). Amur bílý se žije primárně rostlinnou potravou, doplňuje tedy obsádky produkčních i sportovních vod. V dnešní době je amur běžnou součástí obsádek ryb ve volných vodách, kde je vyhledávanou rybou pro sportovní rybolov. Dále se amur využívá v produkčním rybářství, kde nekonkuruje kapru obecnému (*Cyprinus carpio*) a doplňuje tak obsádky našich rybníků (Dubský, 1998). Amur se u nás v přirozených podmínkách nevytírá, jeho chov a výskyt ve volných vodách je tedy podmíněn umělou reprodukcí (Čítek a kol., 1993).

Umělá reprodukce u amura bílého je běžně využívaná metoda. Umělou reprodukci, kterou dnes v akvakultuře využíváme, provádíme pomocí hormonálně indukovaného výtěru. V současné době využíváme k indukci ovulace ryb hormonálních preparátů. K nejúspěšnějším výsledkům vyvolání ovulace u amura bílého se využívá především aplikace kapří hypofýzy nebo synteticky vyrobených GnRH analogů v kombinaci s dopamin inhibitorem (Kouřil a kol., 1999; Kouřil a kol., 2011).

Výsledkem této práce by měla být optimalizace hormonálního ošetření na základě syntetických liberinů s nebo bez přídatku dopamin inhibitorů, kde je celý experiment podložen analýzou hladiny luteinizačního hormonu v krvi a plodnostními

charakteristikami ošetřených ryb. Tato práce by měla přinést nové poznatky do této problematiky.

2. Literární přehled

2.1. Amur bílý (*Ctenopharyngodon idella* – Valenciennes, 1844) – Grass carp

2.1.1. Taxonomické zařazení

Systematické zařazení upraveno dle FishBase (2004):

Říše:	živočichové (Animalia)
Kmen:	strunatci (Chordata)
Podkmen:	obratlovci (Vertebrata)
Nadtřída:	ryby (Osteichthyes)
Třída:	paprskoploutví (Actinopterygii)
Řád:	máloostní (Cypriniformes)
Čeleď:	kaprovití (Cyprinidae)
Rod:	amur (<i>Ctenopharyngodon</i>)
Druh:	amur bílý (<i>Ctenopharyngodon idella</i>)



Obr. č.1: Obrázek Amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*)

2.1.2. Bionomie druhu

2.1.2.1. Základní popis rozpoznávacích znaků

Amur patří k nejpočetnějším a nejrozšířenějším zástupcům kaprovitých (Cyprinidae). Je také jediným zástupcem rodu *Ctenopharyngodon* (Shireman a Smith, 1983; Chilton a Muoneke, 1992; Kottelat a Freyhof, 2007). Pro tělo amura je význačný především jeho torpédovitý tvar. Jeho tělo je pokryté velkými cykloidními šupinami, které jsou kromě břišní partie tmavě lemovány. Jeho hlava je plochá. Dalším výrazným rozpoznávacím znakem jsou jeho oči, které jsou posunuty níže, než například u kapra obecného (*Cyprinus carpio*); (Shireman a Smith, 1983; Baruš a Oliva, 1995b; Kottelat a Freyhof, 2007). Amur, na rozdíl od kapra, postrádá vousky (Page a Burr, 1991; Opuszynski a Shireman, 1995). Ocasní násadec je v porovnání s ostatními kaprovitými velmi mohutný. V České republice je amur nejčastěji zaměňován s jelcem tlouštěm (*Squalius cephalus*). Ten má však břišní a řitní ploutev červeně až oranžově zbarvenou, na rozdíl od světlé hnědozelené barvy břišní a řitní ploutve amura (Baruš a Oliva, 1995b; Kottelat a Freyhof, 2007).

2.1.2.2. Stanoviště a chování

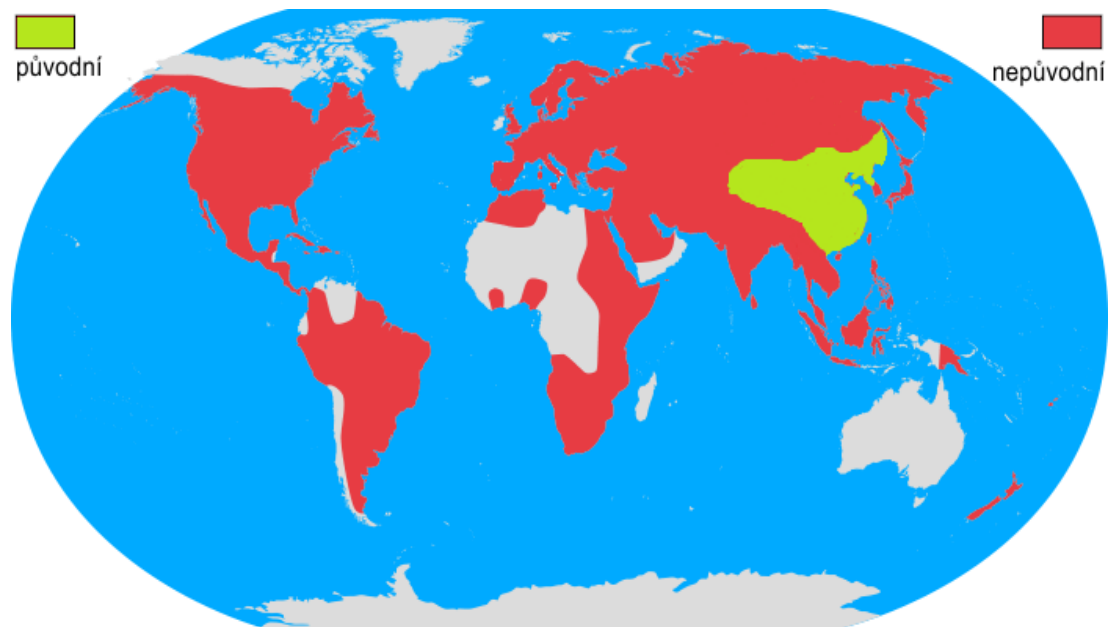
Amur bílý patří mezi typické hejnové ryby, vyskytující se ve vodním sloupci. Vyskytuje se především ve středních a dolních částech větších řek s menším prouděním vody. Z těchto lokalit, podniká migrace do přilehlých, vegetací zarostlých říčních ramen, za účelem získání potravy (Shireman a Smith, 1983; Page a Burr, 1991; Baruš a Oliva, 1995b). V období léta se pohybuje především u hladiny. Vydává se do oblasti litorálu, kde vyhledává a konzumuje přilehlou vodní vegetaci. I větší jedinci připlouvají do mělké vody o hloubce pouhých 30 cm (Krupauer, 1989). V zimních měsících vyhledává hlubokou vodu, kde podobně jako kapr přezimuje (Shireman a Smith, 1983).

Amurovi zcela vyhovuje prostředí rybníků, jezer a údolních nádrží. Jako teplomilná ryba je dokonce nasazován s úspěchem do chladících nádrží elektráren (Krupauer, 1969). Amur také migruje do brakických vod Aralského, Azovského a Černého moře, jelikož je odolný salinitě až 12 ‰ (Karpevič, 1966).

2.1.3. Zeměpisné rozšíření

Původním rozšířením tohoto druhu je oblast Číny, zahrnující i řeku Amur, která představuje přirozenou hranici mezi Ruskem a Čínou. Konkrétně pak řeky Nigpo, Shanghai, jezero Tungling, Hunan (Adams a kol., 2011), Amur bílý také žije v povodí řek Yang-tze, Sungari a Ussuri (Chapman a Wang, 2006). Tento významný hospodářský druh byl v 50. letech díky úspěšnému zvládnutí umělé reprodukce a následné inkubace jiker introdukován do mnoha významných světových rybářských oblastí. Zkušenosti s chovem tohoto druhu můžeme najít v různých státech bývalého SSSR, dále v Maďarsku, Bulharsku, Polsku, v bývalé Jugoslávii, SRN, Holandsku, dále Dánsku, USA, Anglii, Japonsku, Pákistánu, Indii, Malajsii, Egyptě, na Novém Zélandě, Sýrii, Súdánu, Íránu a Uruguayi (Avault a kol., 1968; Krupauer, 1989; Opuszynski a Shireman, 1995). V dnešní době je výskyt amura v Severní Americe spojován s narušením ekosystému tamních řek. Amurovi se zde velmi daří a díky bezproblémovému přirozenému výtěru jeho počty exponenciálně vzrůstají (Cudmore a Mandrak, 2004; Jones a kol., 2017).

Obr. č.2: Obrázek původního a nepůvodního výskytu amura bílého upraveno dle Opuszynski a Shireman (1995)



Amur bílý byl poprvé přivezen a introdukován do bývalého Československa v roce 1961 na Třeboňsko, tento rok je tedy považován za zahájení aklimatizace býložravých ryb u nás (Kubů a Lusk, 1962; Krupauer, 1965; Krupauer, 1966). V roce 1964 a 1965 byl do bývalého Československa opakovaně dovážen váčkový plůdek ze SSSR (Krupauer, 1965; Kubů a Krupauer, 1965). Od roku 1972 se amur vysazuje i do volných vod a můžeme ho najít v nádržích, nebo i na velkých řekách, především na jižní Moravě a Slovensku – v Dyji, Dunaji, Moravě, Labi aj. (Krupauer, 1965).

2.1.4. Přirozená reprodukce

V České republice se zatím amur přirozeně nevytírá (Lusk a kol., 1983). Důvodem problematiky přirozené reprodukce amura je především klima působící na naše území. Naše klima totiž neposkytuje amurovi dostatečný počet denních stupňů, které jsou limitující k dozrání jiker a jejich ovulaci (Goodchild, 1999). Z dlouhodobého hlediska změn klimatu, však u amura není zcela vyloučeno přizpůsobení našim podmínkám, a to i včetně jeho přirozené reprodukce ve volných vodách (Mikešová, 1995).

2.1.4.1. Pohlavní dospělost – pohlavní dimorfismus

Pohlavní dospělost amura, tedy úzce souvisí s klimatickými podmínkami a způsobem chovu (Stanley a kol., 1978). Rozmezí pohlavní dospělosti se pohybuje kolem 3–11 let. Mlíčáci dosahují pohlavní dospělosti zpravidla o 1–2 roky dříve (Shireman a Smith, 1983; Beck, 1996).

Mimo výtěrové období nepozorujeme u amura známky pohlavního dimorfismu. V předvýtěrovém období můžeme u mlíčáků amura pozorovat zdrsnění a zduření tvrdých paprsků prsních ploutví. U jikernaček nastává zvětšení objemu břišní dutiny (Shireman a Smith, 1983; Kottelat a Freyhof, 2007).

2.1.4.2. Reprodukční strategie

Amur bílý se řadí mezi pelagofilní druhy ryb. To znamená, že k přirozenému rozmnožování dochází ve vodním sloupci. Ke tření dochází v řekách v závislosti na teplotě a vývoji počasí. Ve své domovině se amur vytírá zpravidla od poloviny května až do druhé poloviny června (Vinogradov a kol., 1965; Shireman a Smith, 1983; Cudmore a Mandrak, 2004). V podmínkách střední Evropy dochází k výtěru o měsíc později, tedy začátek června až konec července (Horváthová a Horváth, 1974a).

Díky jeho reprodukční strategii vyhledává v řekách spíše místa s rychlejším průtokem vody, nebo místa, kde dochází k různému turbulentnímu proudění, jako jsou například soutoky řek (Stanley a kol., 1978). Fedorenko a Fraser (1978) popisuje, že se amur vytírá i pod přehradními nádržemi, kde u vyústění turbín dochází k značnému proudění vody. Stanley a kol. (1978) uvádí optimální rozmezí proudění vody k přirozenému výtěru. Jedná se o proudění vody o rychlosti 0,6 – 1,5 m.s⁻¹.

V průběhu samotného výtěru je každá jikernačka následována dvěma, či více mlíčáky. Tato skupinka pod vedením jikernačky vyhledá nejsilnější proud, kde se jikernačka nakloní na bok a vypustí jikry. Přesně v tento moment mlíčáci, kteří jsou položeni přímo na jikernače, vypustí mlíčí a dochází tak k oplození (Lin, 1935; Chilton a Muoneke, 1992; Jones a kol., 2017).

Amur je schopen se vytírat v teplotním rozmezí mezi 20–30 °C, přičemž optimální teplota vody je 22–24 °C (Jones a kol., 2017). Crossman a kol. (1987) popisuje výtěr amura při relativně vysoké teplotě 27 °C a Shireman a Smith (1983) při velmi nízké teplotě 15 °C. Chilton a Muoneke (1992) uvádí, že v Číně dochází k výtěru při 30 °C. U ryb, které se ve výtěrovém období nevytřely, dochází během krátké doby ke vstřebání jiker (Gorbach, 1970).

2.1.4.3. Plodnostní charakteristiky

V závislosti na stáří a hmotnosti generačních ryb kolísá plodnost obou pohlaví (Cudmore a Mandrak, 2004).

Objem mlíčí u pohlavně dospělých mlíčáků se pohybuje průměrně kolem 1,5 ml mlíčí (Tölg, 1981). Podle Popova (1968), můžeme v umělém chovu hypofyzární injekcí docílit objemu mlíčí až kolem 3 – 5 ml. Horváthová a Horváth (1974b) uvádí až 15 ml. Po styku s vodou o teplotě 29 °C trvá aktivní pohyb spermií přibližně od 25 – 55 vteřin. Při nižší teplotě vody se aktivní pohyb spermií prodlužuje (Jones a kol., 2017). V umělém chovu mohou být mlíčáci využiti k odběru spermatu opakovaně (Tölg, 1981).

Plodnost je přímo úměrná délce, váze a stáří jikernaček (Shireman a Smith, 1983; Chilton a Muoneke, 1992). Relativní plodnost jikernaček se pohybuje mezi 60 000 – 123 000 ks.kg⁻¹ (Vinogradov, 1966; Horváthová a Horváth, 1974a). Pro absolutní plodnost uvádí Shireman a Smith (1983) 2 000 000 ks jiker. Fedorenko a Fraser (1968) popisuje absolutní plodnosti amurů v řece Amur. Zde autoři uvádí 800 000 ks, jako průměrný počet jiker na samici. Podle českého autora Krupauera (1965) je pracovní

plodnost jikernaček 80 000 – 2 000 000 kusů jiker. Podrobněji popsal v roce 1968 pracovní plodnosti jikernaček ruský autor Vinogradov.

Tab. č.1: Přehled pracovní plodnosti pětiletých až sedmiletých jikernaček (Vinogradov a kol., 1968)

Stáří jikernaček	Počet jiker (ks)	Průměrný počet jiker (ks)
Pětileté	10 000 – 731 000	255 000
Šestileté	100 000 – 1 210 000	550 000
Sedmileté	85 000 – 1 673 000	685 000

Čerstvě vytřené jikry mají tmavě olivovou až šedavou barvu (Vinogradov, 1966). Jikry amura mají specifickou hmotnost přibližně stejnou jako voda a mají velmi tenký jikerný obal v porovnání s ostatními zástupci Cyprinidae. Díky těmto vlastnostem jsou jikry pelagické, nelepivé a potřebují velmi dobře okysličenou vodu (Stanley a kol., 1978; Tölg, 1981). Podle Fedorenka a Fräsera (1978) mohou být jikry v řece unášeny do jejich vylíhnutí až 180 km. Jikry amura jsou silně bobtnavé (Jones a kol., 2017). Velikost jiker před nabobtnáním je 1– 1,5 mm. Po následném nabobtnání zvětšují svůj objem během 4–5 hodin na 4 – 5,3 mm (Stráňai, 2000).

2.1.5. Nároky na chov

2.1.5.1. Nároky na prostředí:

Amura řadíme mezi teplomilné ryby. Nejvyšší příjem potravy vykazuje při vyšších teplotách vody a to mezi 20 – 28 °C. Bez známek negativního chování snáší teplotu vody do 34 °C. Letální hranice teploty vody pro amura je 41 °C (Schofield a kol., 2005). Dokáže však přezimovat i při nízké teplotě vody 1,5 – 0,5 °C (Fedorenko a Fraser, 1978; Chilton a Muoneke, 1992). Ke snížení fyziologické aktivity dochází při teplotě vody 14– 15° C. Úplné zastavení nastává při 8 °C (Krupauer, 1989). Náhlé poklesy teploty vody o 4–5 °C, se u amura projevují dočasným poklesem příjmu potravy. Avšak v jarních či podzimních měsících amur reaguje na zvýšení teploty vody (o 3–4 °C), velmi rychlým zvýšením příjmu potravy (Krupauer, 1968).

Plůdek amura je velmi náročný na teplotu vody. Yang a kol. (2013) uvádí optimální teplotu vody pro chov plůdku kolem 30 – 32 °C. V našich rybníčních podmínkách

jsou však tyto hodnoty nereálné. Maximální teploty vody se u nás pohybují pouze kolem 24 – 28 °C (Horváthová a Horváth, 1974b). Podle Krupauera (1989) je odchov plůdku nejvíce rizikovou fází životního cyklu amura. Hlavními důvody jsou nároky amura na teplotu vody (až 32 °C) a zvýšená citlivost k náhlým změnám teploty vody.

Méně náročný je však na obsah rozpuštěného kyslíku ve vodě. Optimální obsah rozpuštěného O₂ ve vodě je 6 – 7 mg.l⁻¹ (Shireman a Smith, 1983; Chilton a Muoneke, 1993). Dospělí jedinci dokáží přežít i ve vodě s obsahem rozpuštěného kyslíku pouze 0,5 – 0,9 mg O₂ .l⁻¹ (Cudmore a Mandrak, 2004; Yang a kol., 2013). Amur zvládá bez větších problémů pH 7,5 – 9 (Zhao a kol., 2011).

2.1.5.2. Růstové schopnosti

Potěr amura po vylíhnutí dosahuje velikostí 6–7 mm. Velikost jedinců starých jednoho měsíce se pohybuje mezi 25 – 30 mm (Tölg, 1981). Následný růst amura je přímo úměrný dostatku vhodné potravy. Dalším velmi významným faktorem ovlivňující růst amura je teplota vody (Chapman a kol., 2013). V tabulce číslo dvě je uveden přehled růstových schopností amura bílého na různých místech na světě dle Krupauera (1989). Podle Hicklinga (1962) plůdek amura v Malajsii dosahující stáří 9 měsíců, dorůstá délek až 630 mm a neuvěřitelné hmotnosti až 3,3 kg. Pro srovnání Charitonov (1968) popsal hmotnost stejně starých jedinců v rybničním chovu na Ukrajině, kde tito jedinci vážili 14 – 34,5 g. V České republice, konkrétně ve Vodňanské oblasti, uvádí Krupauer (1971) hmotnost takto starých jedinců mezi 7,3 – 36,8 g.

Tab. č.2: Přehled růstových schopností amura v kg (upraveno dle Krupauer, 1989)

		Česká republika					
věk	Řeka Amur	Třeboňsko	Vodňansko	Maďarsko	Ukrajina	Indie rybníky	Čína rybníky
Ab ₁	0,005	0,008	0,02	0,05-0,15	0,015-0,018	1,50	0,03-0,10
Ab ₂	0,15–0,26	0,72	0,32	0,55-1,20	0,26-0,75	4,00	0,28-0,30
Ab ₃	0,20–0,30	1,62	0,87	1,50-4,00	0,61-1,50	7,00	1,80-2,40
Ab ₄	-	4,00	1,89	-	1,10-2,65	8,00	-
Ab ₅	-	5,00	-	-	-	-	-

Podrobněji popsal růstové schopnosti amura na území České republiky Čítek a kol. (1998). Ten uvádí: Ab₁ 5 – 20 g, Ab₂ 200 – 400 g, Ab₃ 600 – 1 100 g, Ab₄ 1 000 – 1 800 g. Amur má tedy obrovský růstový potenciál ve vodách s vyšší teplotou. Úlovky jedinců ve stáří 5–6let v Karakumském kanále popisuje Alijev (1965), kde tyto ryby dosahovaly váhy až 20 kg.

2.1.5.3. Potravní nároky

Amur bílý začíná příjmem smíšené potravy (zooplankton o velikosti 50–300 µm) během čtvrtého dne po vykulení a absorpci žloutkového vajíčka. V tuto dobu se jeho velikost pohybuje kolem 7 mm (Bessmertnaja, 1969; Tölg, 1981). Příjem potravy výlučně exogenním způsobem začíná v průběhu šestého dne od vykulení, a to při teplotě vody 20–24 °C (Baruš a Oliva, 1995b). Skladbu této první potravy tvoří především zooplankton: drobní vířníci (Rotifera), buchanky (Copepoda) a malé perloočky (Cladocera); (Fedorenko a Fraser, 1978). Přibližně od osmého dne po narození dosahuje plůdek amura velikosti kolem 9 mm. Takto velcí jedinci jsou již schopni přijímat i drobné larvy pakomárů (Chironomidae). V tomto věku a velikosti je již při intenzivním chovu možné začít s příkrmováním náhradními krmivy. Příkladem těchto krmiv je sójová mouka, různé startérové směsi a další (Krupauer, 1969; Želtov a Kražan, 1977; Tölg, 1981).

Po dvou týdnech od vykulení při délce 16–17 mm, začínají mladí amuri pojídat první rostlinnou stravu. Tato rostlinná strava obsahuje vláknité řasy, malé úlomky částí rákosu a orobince (Opuszynski a Shireman, 1995). V intenzivních chovech, či extrémně hustých obsádkách může v tomto věku docházet i ke kanibalismu (Bessmertnaja, 1969).

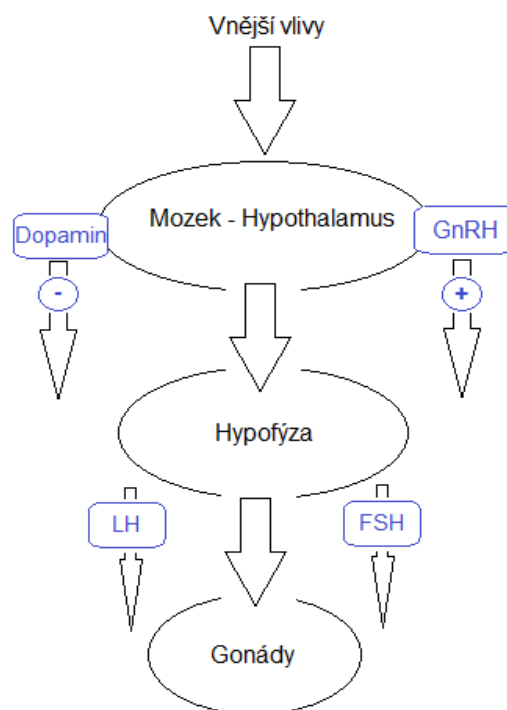
Podle Krupauera (1974), začíná plůdek amura konzumovat vodní vegetaci přibližně po prvním měsíci svého života o velikosti kolem 50 mm. Zhruba po šesti měsících můžeme najít v zažívacím traktu amurů rostlinnou potravu. V tomto věku tvoří množství rostlinné potravy zhruba 40–70 % celkového objemu zažívacího traktu (Schofield a kol., 2005). Zooplankton je tedy důležitý pouze pro plůdek amura a v zažívadlech amura ho můžeme najít do druhého roka života. V dalším průběhu života je již zooplankton naprosto zanedbatelnou složkou jejich potravy. Naopak se zvyšuje podíl bentických organismů, které žijí na vodních rostlinách (Opuszynski a Shireman, 1995). V některých případech byly u větších jedinců nalezeny v zažívadlech drobné rybky (Krupauer, 1989).

2.2. Neuroendokrinní regulace reprodukce ryb

2.2.1. Reprodukce ryb

Základní biologická vlastnost všech živých organismů je schopnost reprodukce, tedy možnost zachování svého druhu a života vůbec (Drahotušský a Novák, 2000). Hlavní cestou rozmnožování u ryb je pohlavní rozmnožování. U pohlavního rozmnožování je vznik nového jedince podmíněn splynutím dvou gamet, a to vajíčka a spermie. (Hofmann a Novák, 1996). Aby docházelo k pohlavnímu rozmnožování, je důležitá normální funkce pohlavního ústrojí, což znamená, aby byla zajištěna produkce pohlavních buněk, které jsou schopny oplození (Jelínek a kol., 2003).

Tak jako hormony vyšších obratlovců, tak i hormony ryb hrají zcela zásadní úlohu v reprodukčním procesu. Pomocí kaskády hormonů v tzv. reprodukční ose: hypothalamus – hypofýza – gonády, která je znázorněna na obrázku č. 3, je zajištěna regulace finálního zrání gamet a gametogeneze (Peter a Yu, 1997; Mylonas a kol., 2010).



Obr. č.4: Zjednodušené schéma hormonální reprodukční osy ryb – upraveno dle (Kouřil a kol., 1999 a Mylonas a kol., 2010)

2.2.2. Hormonální řízení ovulace ryb

2.2.2.1. Hypothalamus a hypofýza

Hypothalamus leží ve spodní části mozku (Redding a kol. 1993). Jedná se o strukturu bohatou na neurony. U většiny kostnatých ryb neurony pocházející z hypothalamu mohou pronikat do všech částí hypofýzy, což umožňuje přímou kontrolu funkce hypofýzy (Dodd, 1983; Gorbman, 1983). Hypothalamus dává impuls hypofýze, zda má snižovat nebo zvyšovat produkci hormonů. Tento jev zajišťují hypofyzotropní hormony liberiny a statiny, které jsou produkovány neurosekrečními neurony (Yadav, 2008).

Hypofýza se dá označit také jako centrální endokrinní žláza. Je tedy z části nadřazená všem ostatním žlázám s vnitřní sekrecí (Harder, 1975). Hypofýza je endokrinní žláza, která se rozděluje na dvě základní části, též laloky. Přední lalok se nazývá adenohipofýza, zatímco zadní lalok se nazývá neurohipofýza a je výchlípkou části hypothalamu (Van Oordt a Peute, 1983). U ryb proniká část neurohipofýzy díky pruhům nervové tkáně až do adenohipofýzy (Baruš a Oliva, 1995b). Ve vnitřku cytoplasmy většiny buněk v adenohipofýze můžeme najít sekreční granula, které obsahují produkováné hormony. Hormony, jež se nachází v této části mozku a ovlivňují reprodukci ryb, se nazývají gonadotropní hormony (Bentley, 1998; Yadav, 2008).

2.2.2.2. Gonadotropní hormony

Koncem 80. let minulého století se změnil pohled na fungování fyziologických funkcí u ryb spojených s působením gonadotropních hormonů (GtH) a to díky objevu dvou od sebe navzájem rozdílných GtH u lososa. Do té doby se tyto funkce připisovaly pouze jednomu GtH (Kawauchi a kol., 1989). Tyto dva hormony kontrolují činnost gonád ale i štítné žlázy. Syntetizují a uvolňují se v adenohipofýze a jsou pojmenovány podle jejich účinků na gonády (Mylonas a kol., 2010).

Prvním hormonem je folikuly stimulující hormon (FSH) – u samců vyvolává spermatogenezi a u samic působí na rozvoj a zrání folikul vaječníků. Druhým hormonem je luteinizační hormon (LH) – u samic působí na ovulaci a u samců na růst tkáně varlat a uvolňování testosteronu (Bentley, 1998; Nagahama a Yamashita, 2008; Yadav, 2008). Skrze celý průběh vitelogeneze převládá koncentrace především FSH, avšak koncentrace LH se velmi strmě zvyšuje s nástupem ovulace (Davies a kol., 1995; Prat a kol., 1996).

Oba dva tyto hormony řadíme mezi proteiny. Jejich molekulová váha se pohybuje kolem 3 000 a obsahují i podíl sacharidů (12 – 20 %). Dále tyto hormony rozdělujeme

do dvou neidentických podjednotek α a β . Tyto podjednotky jsou spojeny nekovalentní vazbou. Podobné hormony s takovýmto původem a strukturou můžeme najít u všech tříd obratlovců (Bentley, 1998).

Tab. č.3: Přehled osmi doposud známých forem GnRH u ryb – upraveno dle Lethimonier a kol., (2004)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Savčí GnRH (mGnRH)	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Arg	Pro	Gly-NH ₂	(Matsuo a kol., 1971)
Lososový GnRH (sGnRH)	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Trp	Leu	Pro	Gly-NH ₂	(Sherwood a kol., 1983)
Kuřecí GnRH-II (cGnRH-II)	pGlu	His	Trp	Ser	His	Gly	Trp	Tyr	Pro	Gly-NH ₂	(Yu a kol., 1988)
Sumcový GnRH (cfGnRH)	pGlu	His	Trp	Ser	His	Gly	Leu	Asn	Pro	Gly-NH ₂	(Bogerd a kol., 1992)
Pražmový GnRH (sbGnRH)	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Leu	Ser	Pro	Gly-NH ₂	(Powell a kol., 1994)
Sled'ový GnRH (hgGnRH)	pGlu	His	Trp	Ser	His	Gly	Leu	Ser	Pro	Gly-NH ₂	(Carolsfeld a kol., 2000)
Medakový GnRH (mdGnRH)	pGlu	His	Trp	Ser	Phe	Gly	Leu	Ser	Pro	Gly-NH ₂	(Montaner a kol., 2001)
Síhový GnRH (wfGnRH)	pGlu	His	Trp	Ser	Tyr	Gly	Met	Asn	Pro	Gly-NH ₂	(Adams a kol., 2002)

2.2.2.3. Gonadotropin uvolňující hormon – GnRH

Gonadotropin uvolňující hormon je hypothalamického původu a z hlediska chemického ho řadíme mezi neurodekaeptidy, což znamená, že je složen z deseti aminokyselin (King a Millar, 1991; Jelínek a kol, 2003). GnRH patří mezi hlavní regulátory uvolňování LH (Kah a kol., 2007). První pokusy se zdárným výsledkem a izolací GnRH se uskutečnily u savců. Došlo k izolaci ze savčího hypothalamu a vzorec tohoto GnRH je: pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂. U ryb se poprvé GnRH podařilo identifikovat u lososa, a to konkrétně u druhu lososa kety (*Oncorhynchus keta*); (Sherwood a Lovejoy, 1989; Sherwood a kol., 1994).

U všech známých obratlovců známe čtrnáct forem GnRH (Adams a kol., 2003). Pro srovnání u ryb je popsáno osm forem GnRH, což je největší počet variant ze všech skupin obratlovců. Přehled těchto forem rybiho GnRH můžeme vidět v tabulce č. 3. (Sherwood a kol., 1983; Carolsfeld a kol., 2000; Montaner a kol., 2001; Adams a kol., 2002). Odlišnosti mezi jednotlivými formy GnRH jsou v zastoupení aminokyselin v peptidovém řetězci (Bosma a kol., 2000).

Podle Fernalda a Whita (1999) můžeme GnRH formy rozdělit na tři monofyletické skupiny, a to na základě lokalizace v mozku a jejich předpokládané funkce. U každého rybího druhu můžeme identifikovat až 3 formy GnRH (Lethimonier a kol., 2004). Tyto formy se od sebe odlišují pouze v jejich aminokyselinové sekvenci (Dubois a kol., 2002).

První skupina – GnRH-I

Do této skupiny spadají formy GnRH, které se podílejí především na regulaci sekrece LH. Tyto formy GnRH jsou produkovány v proximální části hypothalamu a z části také v hypofýze (King a Millar, 1995). Dle Dubois a kol. (2002) jsou formy GnRH v této skupině: kuřecí-I (cGnRH-I), sumcový (cfGnRH), savčí (mGnRH) a pražmový (sbGnRH).

Druhá skupina – GnRH-II

Sem patří podle Fernalda a Whita (1999) pouze kuřecí-II (GnRH-II). Tato forma GnRH má místo exprese v části středního mozku, tedy (cGnRH-II) a byla potvrzena skoro u všech zkoumaných obratlovců. Byl také prokázán vliv této formy na příjem potravy a sexuální chování (Guilgur a kol., 2006; Kah a kol., 2007; Miyamoto a kol., 1984).

Třetí skupina – GnRH-III

Zde se nachází pouze lososové GnRH s označením (sGnRH). Tuto formu GnRH můžeme najít pouze u ryb a produkce je situována v předním mozku, terminálním nervu a čichových lalokách (White a kol., 1998; Okubo a Nagahama, 2008;). U druhů ryb, které nevykazují formu GnRH-I, je lososové GnRH hlavní spouštěč sekrece LH (Peter a Yu, 1997).

2.2.2.4. Dopamin – DA

DA, jeden z katecholamních neurotransmiterů (Dufour a kol., 2005), je jediný známý faktor, který inhibuje sekreci LH u kaprovitých ryb (Kah a kol., 1984; Peter a kol., 1991; Trudeau, 1997; Popesku a kol., 2008). Dopamin uplatňuje své inhibiční aktivity přes receptory GPCR (receptor spřížený s G proteinem), které se skládají ze sedmi transmembránových alfa-helixových domén. Tyto inhibiční aktivity řídí dvě hlavní skupiny DA receptorů, a to D1 a D2 (Dufour a kol., 2010). Tyto dvě skupiny jsou odlišné v jejich funkci inhibovat (D2) nebo aktivovat (D1) enzym adenylátcyklázu (Missale a kol., 1998). Sekrece dopaminu z nervových zakončení v hypofýze a jejich vazeb na dopaminové receptory D2 (tyto receptory se nacházejí v gonádách), mají za následek inhibici bazálního a GnRH-stimulovaného uvolňování LH (Omeljaniuk a kol., 1987; Van der Kraak a kol., 1998; Nagahama a Yamashita, 2008).

Při porovnávání rychlosti chemických procesů můžeme pozorovat jak náhlé, tak dlouhodobé inhibiční účinky DA. Náhlý přímý účinek DA, vyvolává narušení intracelulárních GnRH signálních drah (Chang a kol., 1993). Dlouhodobé účinky mají za vinu snížení počtu GnRH receptorů na povrchu tropických buněk LH (De Leeuw a kol., 1989) a pokles propouštění GnRH peptidů z terminálních nervů v hypofýze (Yu a Peter, 1992).

2.2.3. Ovulace

Ovulace je proces, při kterém dochází k prasknutí stěny folikuly, a to z důvodu změny její skladby a s nárůstem nitrofolikulárního tlaku. Dále dochází k odplavení vajíčka do vejcovodu (Jelínek a kol., 2003). U ryb se ovulace vyznačuje především velkým nárůstem sekrece LH (Kime, 1993).

2.2.3.1. Faktory ovlivňující ovulaci ryb

Podle Gely a kol. (2009) je reprodukce ryb ovlivněna různými faktory. Mezi nejdůležitější faktory řadí především zdravotní stav ryb a jejich kondici. Zdravotní a kondiční stav generačních ryb může být ovlivněn především chovnými podmínkami, což zahrnuje kvalitu překládaného krmiva, hygienickou úroveň chovu a další (Kouřil a kol., 1999). Mezi další faktory řadíme světelný a teplotní režim a chemizmus vody. Dalšími faktory jsou podněty vzbuzující v generačních rybách reprodukční pudy. Do těchto faktorů spadá například přítomnost vhodného výtěrového substrátu, či přítomnost ryb stejného druhu, avšak opačného pohlaví. Soubor všech těchto faktorů je přijímán a následně vyhodnocován v centrální nervové soustavě (Pankhurst, 1998; Svobodová a Kolářová, 2004; Kroupová a kol, 2005; Sudová a kol., 2007).

Po vyhodnocení všech vnitřních a vnějších faktorů a usouzení podmínek jako přijatelných k reprodukci, dochází k sekreci GnRH. U mlíčáků podporuje růst varlat a sekreci testosteronu, zatímco u jikernaček stimuluje ovulaci (Bentley, 1998; Yadav, 2008).

2.2.3.2. Endokrinní dysfunkce konečného zrání oocytů

U ryb chovaných v podmínkách umělého prostředí (Brzuska, 1999; Svobodová a Kolářová, 2004; Kroupová a kol, 2005, Sudová a kol., 2007), vykazují některé kaprovité ryby reprodukční endokrinní dysfunkci, která většinou spočívá v neschopnosti podstoupit konečné zrání oocytů (FOM); (Yaron, 1995). Tyto dysfunkce jsou způsobeny

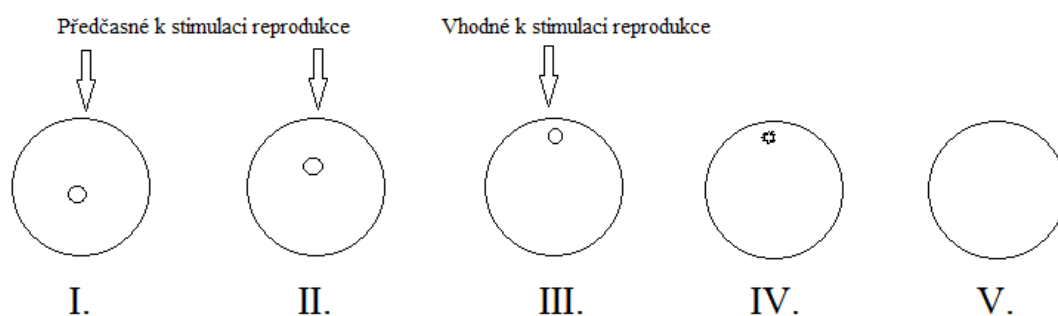
nedostatečnou sekrecí LH z hypofýzy (Mananos a kol., 2009). Sekrece LH z hypofýzy je nezbytná pro aktivaci steroidogeneze a FOM (Yaron a Levavi – Zermansky, 1986; Drori a kol., 1994).

U jikernaček se tato dysfunkce projevuje poruchami FOM, selháním ovulace a konečným selháním samotného výtěru (Peter a kol., 1993; Mylonas a Zohar, 2007). U mličáků mají tyto poruchy za příčinu nízkou kvalitu spermatu, nebo jeho nízký objem (Billard, 1986). U většiny ryb, které jsou trvale chovány v umělých podmínkách, jikernačky projdou úspěšně vitelogenezi, poté ale dojde k selhání FOM. Tato skutečnost neumožňuje rybám s touto dysfunkcí podstoupit samotný výtěr (Barbaro a kol., 2002).

Jeden z prvních důkazů dokládajících tuto dysfunkci byla schopnost hypofýzy (obsahující LH) vyvolat ovulaci u zralých jikernaček různých druhů ryb (Kouřil a Chábera, 1976). Porovnáním úrovně LH v době tření, byly tyto skutečnosti jednoznačně prokázány mezi rybami v zajetí a rybami ve volné přírodě. Konkrétně pak, například u mořana zlatého (*Sparus aurata*); (Zohar, 1988) a morčáka pruhovaného (*Morone saxatilis*); (Mylonas a kol., 1997). V krevním oběhu divokých ryb bylo zvýšení hladiny LH pozorováno v počátečních fázích vitelogeneze, při FOM a následné ovulaci. Zatímco ryby v zajetí nevykazovaly žádné známky zvýšení LH a po vitelogenezi byl tento proces dokončen. Následně začaly oocyty podstupovat atrézii (zánik folikul); (Zohar, 1989; Mylonas a Zohar, 2001). Měření hladiny LH, LH mRNA, a mRNA LH receptorů v hypofýze, neodhalila žádné rozdíly mezi divokým morčákem a morčákem v zajetí (Steven, 2000), což potvrzuje předpoklad, že se jedná spíše o dysfunkci LH sekrece než dysfunkci syntézy LH. Tyto údaje naznačují, že syntéza GnRH v hypotalamu není narušena, ale že problém se týká sekrece GnRH z nervových zakončení v adenohipofýze (Steven a kol., 2000).

2.2.4. Umělá reprodukce u amura bílého

Chov amura bílého v České republice závisí na umělém výtěru pomocí hormonální stimulace (Lusk a kol., 1983; Čítek a kol., 1993). Mezi nejúspěšnější hormonální přípravky k vyvolání ovulace u amura patří aplikace kapří hypofýzy, nebo synteticky vyrobených GnRH analogů v kombinaci s DI (Kouřil a kol., 1999; Kouřil a kol., 2011). Všechny hormonální přípravky aplikujeme pomocí injekčních stříkaček intramuskulárně nebo intraperitoneálně (Gela a kol., 2009).



I. jádro v centrální pozici, II. jádro s velmi významnou migrací k animálnímu pólu, III. jádro na periferii, optimální stav a připravenost jíkernačky k řízené reprodukci, IV. zrající ovocyt s "rozpadajícím se jádrem", tzn. v období I. meiozy, V. ovulovaný ovocyt - neznatelné jádro

Obr. č.5: Znárodnění stádií migrace jádra vizualizací v prosvětlovacích médiích při růstu, zrání a ovulaci ovocytu upraveno dle Linhart (2011)

2.2.4.1. Hormonální preparáty užívané u amura

A) Hormonální přípravky na bázi gonadotropinů

Do skupiny těchto hormonálních přípravků patří kapří hypofýza (CPE), která funguje na bázi nahrazování nedostatečné produkce endogenního LH pomocí exogenního LH (Levavi-Zermosky a Yaron, 1986). Druhým typem přípravku je choriogonadotropin (hCG). Přípravek obsahuje lidský choriový gonadotropin, který je získáván z moči těhotných žen (Donaldson, 1996). Tento typ přípravku se ale u amura běžně nevyužívá (Kouřil a kol., 2011).

Kapří hypofýza (CPE)

První pokusy s využitím CPE ke stimulaci ovulace u ryb se uskutečnily v Brazílii v roce 1930 (von Ihering, 1937; Fontenele, 1952). Další experimenty proběhly v USA a podrobně je popisuje Hasler a kol. (1940), také v Japonsku dle Migita a kol. (1952). Hypofýzu extrahujeme z pohlavně dospělých ryb, přičemž nezávisí na jejich pohlaví. Nejúčinnější hypofýzy jsou s nejvyšším obsahem luteinizačního hormonu – LH (Zohar, 1989). Podle Yarona (1995) je obsah LH vyšší z hypofýzy, která byla shromážděna z ryb v období tření. Dále také podle něj obsah LH závisí na věku, hmotnosti a době skladování. Podle Gely a kol. (2009) a Kouřila a kol. (2006), vytváříme roztok CPE a fyziologického roztoku, ten pak pomocí injekce aplikujeme intramuskulárně do dutiny břišní. Injikaci provádíme zpravidla ve dvou dílčích dávkách,

v závislosti na hmotnosti ryby. U amura aplikujeme CPE ve dvou dílčích dávkách (Kouřil a kol., 2006). Celková dávka se pohybuje do 5 mg.kg^{-1} (Horváthová a Horváth, 1974a,b; Krupauer, 1989).

Zohar a Mylonas (2001) uvádí některé nevýhody spojené s aplikací CPE. Patří sem například problém s vysokou variabilitou koncentrace LH v hypofýze, možný přenos nemoci na ošetřené ryby, zánětlivé reakce a další.

B) Hormonální přípravky na bázi GnRH

Tyto preparáty fungují na principu přímé stimulace endogenního LH (Zohar a Mylonas, 2001). Jejich výhodami jsou eliminace přenosu onemocnění na ošetřené ryby, použití přesné koncentrace GnRH (Chen a Fernald, 2008) a komplexnější náprava reprodukční dysfunkce u ryb (Yaron a Sivan, 2002). Podhorec a Kouřil (2009) vidí další výhodu v poměrně vysoké podobnosti GnRH peptidů mezi jednotlivými druhy ryb, díky čemuž je možné využít jeden druh preparátu pro více druhů ryb. Tyto synteticky vyrobené GnRH analogy se aplikují samostatně nebo v kombinaci s DI. Rozsah účinné dávky GnRHa se pohybuje mezi $5\text{--}100 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$ a v případě DI $5\text{--}20 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Kucharczyk a kol., 2005; Heyrati a kol., 2007; Podhorec a Kouřil, 2009).

Mezi nejčastěji využívané formy GnRH používané k umělému výtěru u amura patří savčí GnRHa Lecirelin [D-Tle⁶, Pro⁹, NET] – mGnRHa, savčí GnRHa [D-Ala⁶, Pro⁹, NET] – mGnRHa, lososí GnRHa [D-Arg⁶, Pro⁹, NET] – sGnRHa (Kouřil a kol., 2006; Podhorec a Kouřil, 2009; Kouřil a kol., 2011).

V současné době můžeme na trhu najít několik různých výrobků na bázi GnRHa nebo GnRHa s DI. Do skupiny přípravků obsahujících sGnRHa patří například izraelský výrobek Dagin (sGnRH + metoclopramide) dovážený firmou Gan Samuel Fish-Hatchery (Yaron a kol., 2002), kanadský výrobek Ovaprim (sGnRH + domperidone). Do skupiny přípravků obsahujících mGnRHa řadíme maďarský přípravek Ovopel (mGnRH + metoclopramide), holandský přípravek Gonazon (mGnRH) a český přípravek Supergestran (mGnRH) vyráběný firmou Nordic Pharma s.r.o. (Podhorec a Kouřil, 2009; Kouřil a kol., 2011).

Kromě typu GnRHa je velmi důležitým faktorem způsob aplikace hormonálního přípravku. Ten je podmíněn typem rozvoje gonád (Mylonas a Zohar, 2007). U druhů s asynchronním dozráváním gonád je vhodné využití dlouhodobě se uvolňujících přípravků GnRHa (Mylonas a Zohar, 2001), zatímco u druhů se synchronním rozvojem

gonád většinou stačí jednorázové injekční podání (Yaron, 1995). Amur bílý patří mezi druhy se synchroním rozvojem gonád (Kottelat a Freyhof, 2007), takže jednorázové injekční podání většinou stačí.

Tab. č.4: Závislost délky intervalu latence na teplotě vody u jikernaček amura bílého při použití hormonální indukce ovulace pomocí jednorázového podání přípravků Dagin nebo Ovopel (Kouřil a kol., 2011).

Teplota	(°C)	21,0	21,5	22,0	22,5	23,0	23,5	24,0	24,5
Interval latence	(h)	23,5	21,5	20,0	18,5	17,5	16,5	15,5	14,5

**Zelenou barvou jsou vyznačeny hodnoty doporučených teplot vody pro výtěr amura bílého*

2.2.4.2. První umělé výtěry na našem území

První pokusy s výtěrem amura u nás proběhly na Pohořelicku v letech 1971–1972. Tyto pokusy s generačními rybami proběhly za použití hormonální stimulace pomocí kapří hypofýzy, bez úspěchu (Putschögl, 1973). Získané generační ryby (v počtu 120 ks) z importu plůdku v roce 1965, které byly odchovány pro amura v klimaticky příznivých podmínkách SR Pohořelice, byly znovu využity k umělému výtěru v roce 1973. Umělý výtěr byl úspěšný u tří jikernaček amura a rybáři tak získali přibližně 2,5 mil. ks jiker. Povedlo se odchovat přibližně 550 tis. ks váčkového plůdku (Krupauer, 1965; Kubů a Krupauer, 1965; Putschögl, 1973). S umělou reprodukcí a počátečním odchovem plůdku významně pomohli manželé Horváthovi, kteří zpracovali metodiky o těchto výtěrech (Horváthová a Horváth, 1974a,b). Díky prvnímu zvládnutí umělého výtěru amura v roce 1973, je tento rok považován za milník v procesu aklimatizace býložravých ryb u nás (Hartman, 1987). Krupauer (1974) zpracoval metodiku „Zásady chovu amura bílého v rybnících“.

2.2.4.3. Samotný umělý výtěr

Příprava generačních ryb

Podle Krupauera (1974), je příprava generačních ryb důležitou částí umělého výtěru amura. Generační ryby vylovené z matečného rybníku (konec května až začátek června) transportujeme na líheň zhruba jeden až dva týdny před naplánovaným výtěrem (Hartman, 1987). Dále je důležité, aby všechny ryby byly roztríděny, jak podle pohlaví, tak podle připravenosti k výtěru. Mlíčáky umístíme do samostatné skupiny (Stráňai, 2000).

Hartman (1987) doporučuje rozdělení jikernaček do tří skupin. Do první skupiny řadí jikernačky s měkkými břišními partiemi, které jsou nejbližší k samotnému výtěru. Do druhé skupiny patří jikernačky s tvrdším břichem. Tyto jikernačky převezeme do manipulačního rybníku, nebo na líheň s oteplenější vodou (využijí se později). Ve třetí skupině jsou jikernačky, které nemají předpoklady k výtěru. Tyto jikernačky se vyřazují.

Umělý výtěr mlíčáků

S odběrem spermatu u mlíčáků není problém, a proto je můžeme k odběru využít opakovaně (Tölg, 1981; Horváthová a Horváth, 1974a). Čítek a kol. (1998) doporučuje hormonální stimulaci pomocí kapří hypofýzy v jedné dávce v závislosti na váze ryby. Tato dávka se pohybuje v rozsahu 2 – 2,5 mg.kg⁻¹. Podobnou dávku doporučuje Krupauer (1989) a to 3 mg.kg⁻¹. Mlíčáci mohou být vytřeni jednak rovnou na jikry v suché misce, nebo může být mlíčí odebráno před výtěrem (Horváthová a Horváth, 1974a).

Umělý výtěr jikernaček

Samotný umělý výtěr probíhá v červnu až červenci, na líhni při teplotě vody 20-24 °C (Tölg, 1981; Krupauer, 1989). Jikernačkám umístěným v závěsných bazénech s měkkými boky, se doporučuje po dobu dvou dnů, zvyšovat teplotu o 1 – 2 °C za den. Hormonální stimulaci provádíme po dosažení optimální teploty k výtěru, což je v rozmezí mezi 22 – 25 °C (Krupauer, 1974; Hartman, 1987).

Po provedení hormonální stimulace dochází v závislosti na hormonálním přípravku, teplotě a dalších faktorech k ovulaci (Kouřil a kol., 2011). Aby nebyla narušena ovulace ryb, nemělo by docházet ke kolísání teploty vody a obsahu rozpuštěného O₂. Ten by neměl klesnout pod 6 mg.l⁻¹ (Krupauer, 1989). K zamezení spontánního úniku jiker do nádrže můžeme zašít urogenitální papylu křížovým stehem (Steffens, 1985).

Po dosažení ovulace se přistupuje k výtěru. Výtěr se provádí zpravidla suchou metodou. Tato metoda spočívá v důkladném osušení břišních partií a celé řitní ploutve

jikernačky. Do předem vysušené misky opatrně pomocí tlaku na břišní dutinu vytřeme jikry z jikernačky. Po celou dobu výtěru je nezbytné zamezit vodě, aby se dostala k pohlavním produktům, a tím je tak aktivovala (Horváthová a Horváth, 1974a,b; Hartman, 1987; Krupauer 1989; Kouřil a kol., 2007).

Při manipulacích s generačními rybami je nezbytné provedení anestezie ryb (Kouřil a kol., 2006; Kolářová a kol., 2007).

Oplození a inkubace

K oplození je vhodné využít heterosperma (Krupauer, 1978). Na jeden litr jiker v suché misce aplikujeme zhruba 10 ml heterospermatu. Samotné oplození se aktivuje přidáním vody do misky. Po smíchání mlíčí, jiker a vody, dochází k oplození přibližně do dvou minut (Hartman, 1987; Stráňai, 2000).

Jikry amura bílého inkubujeme nejčastěji ve speciálních velkokapacitních inkubačních lahvích s označením Dněpr. Ideální teplota vody pro inkubaci jiker amura je 21–22 °C (Čítek a kol., 1993). Délka inkubace jiker je závislá na teplotě vody (Stráňai, 2000). Krupauer (1966) uvádí 19 – 32 hodin. Podle Tölga (1981) délka inkubace trvá 24–38 hodin, což je 24–30denních stupňů. Kolísání teplot v průběhu líhnutí má za následek četnější úhyn embryí v jikře a větší výskyt vývojových abnormalit (Baruš a Oliva, 1995b).

3. Materiál a metodika

3.1. Podmínky pokusu

Celý experiment probíhal 22. 6. 2015 až 23. 6. 2015 na rybí líhni v Hodoníně, která patří Rybářství Hodonín, s.r.o.

3.1.1. Experimentální ryby

K našemu experimentu jsme využili 21 ks jikernaček a 5 ks mlíčáků amura bílého. Průměrná váha těla jikernaček byla $11\,428 \pm 390$ g. Průměrná váha mlíčáků byla nižší, a to $10\,000 \pm 500$ g. Jednalo se o generační ryby ve věku přes 10 let, patřící Rybářství Hodonín, s.r.o.

3.1.2. Výlov a transport experimentálních ryb

Generační ryby jsme lovili z menšího manipulačního rybníčku, kam byly předtím převezeny z rybníků patřících hodonínským rybářům. Ryby jsme s pomocí místních rybářů lovili tažnou sítí, takzvanou vatkou (Obr. č.8). V průběhu samotného výlovu generačních ryb jsme se snažili o co největší možnou eliminaci stresových faktorů, jako jsou například přebytečné manipulace s rybami, mechanické poškození generačních ryb, přidušení a další. Manipulaci s generačními rybami po jejich odlovu můžeme vidět na obrázku č. 9.

Tyto faktory jsme omezili i při transportu vylovených generačních ryb, kde převoz ryb trval velmi krátkou dobu (řádově pár minut) na rybí líheň, která byla vzdálena jen pár stovek metrů.

3.1.3. Selektce a přechování experimentálních ryb

Po transportu ryb jsme jikernačky rozdělili podle jejich připravenosti k výtěru. Mlíčáky jsme oddělili do samostatného bazénu a jikernačky do 3 závěsných bazénů obdélníkového tvaru z vyztužené PVC folie o rozměrech 2 x 1 x 0,9 m a objemu 1 800 l. Po posouzení břišních partií jikernaček jsme vyřadili některé kusy. Zpravidla se jednalo o ryby, u kterých jsme zjistili spontánní ovulaci, anebo o jikernačky, které nebyly dostatečně zaplněné jikrami (oocyty). Tyto ryby by znehodnotily naše experimentální výsledky.

Při rozdělování jikernaček jsme každou jednotlivou rybu zvážili a dbali jsme na náhodné rozdělení do skupin po 7 kusech, avšak při přibližně stejné průměrné váze. Dále jsme každou rybu v každé skupině jikernaček označili v bázi hřbetní ploutve krátkodobými značkami. V tomto případě jsme využili různě barevných bavlnek (bílou, modrou, červenou, žlutou, zelenou, černou, oranžovou). Ty jsme rybám připevnili pomocí zdravotní jehly s velkým očkem. Značení jikernaček bavlnkami můžeme vidět na obrázku č. 10. Barevné označení a jednotlivé hmotnosti ryb jsme zaznamenávali do předem připravené tabulky.

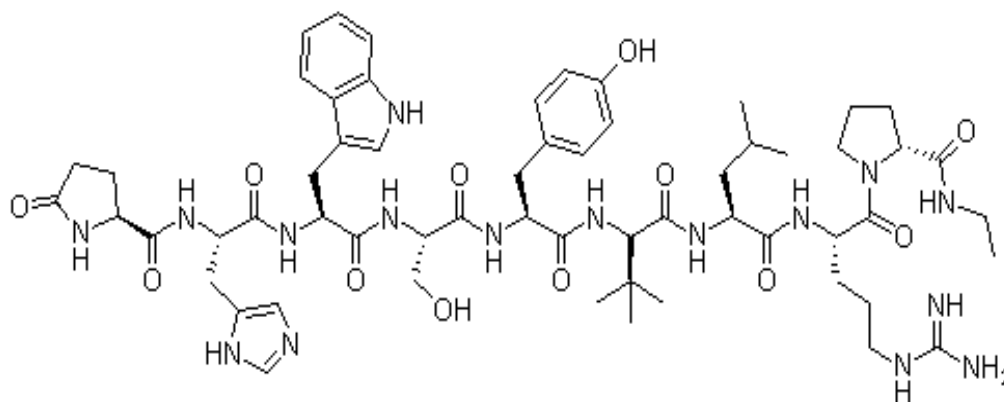
V průběhu celého pokusu se teplota vody v závěsných nádržích pohybovala mezi 21,2–22,1 °C. Nasycení vody kyslíkem bylo v rozmezí 7,22–7,29 mg. l⁻¹. Rybám nebylo předkládáno žádné krmivo. Ryby by krmivo nepřijímaly z důvodu stresových faktorů a jejich přípravy na výtěr. Krmivo by nám znehodnotilo jakost vody a ovlivnilo výsledky experimentu.

3.2. Použité chemické přípravky

3.2.1. Hormonální přípravky

Supergestran

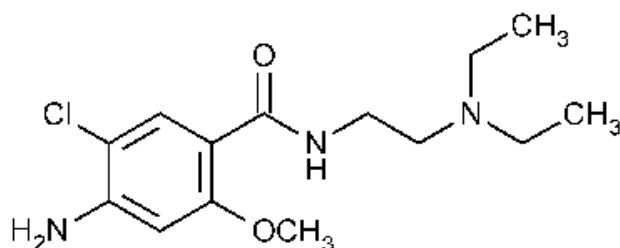
Přípravek značky Nordic Pharma s.r.o. obsahoval savčí GnRHa – Lecirelin (mGnRHa [D-Tle⁶, Pro⁹, NEt]). Preparát byl ve formě fyziologického roztoku s rozpuštěnou účinnou látkou v zatavených ampulích. Každá ampule o objemu 2 ml obsahovala koncentraci 25 µg.kg⁻¹ mGnRHa. My jsme přípravek naředili fyziologickým roztokem na požadovanou dávku o koncentraci 12,5 µg.kg⁻¹ účinné dávky.



Obr. č.5.: Strukturální vzorec Supergestranu

Supergestran + Metoclopramide hydrochloride

Přípravek Metoclopramide hydrochloride se dnes běžně využívá k farmaceutickým účelům, a to konkrétně k tlumení nevolnosti a zmírnění zvracení. Metoclopramide hydrochloride se dá charakterizovat jako sypký, ale ve vodě dobře rozpustný dopaminergní inhibitor. Před injikací jsme metoclopramide rozpustili ve fyziologickém roztoku, a to v dávce 20 mg.kg^{-1} a dále smísili roztokem GnRHa o koncentraci $12,5 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$.



Obr. č.6: Strukturní vzorec metoclopramidu

Fyziologický roztok

Při aplikaci hormonálních přípravků jsme používali 0,9 % NaCl – lidský fyziologický roztok značky Braun Melsungen AG.

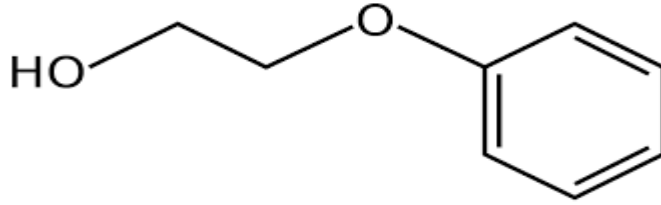
3.2.2. Další chemické přípravky

Heparin

Heparin jsme používali při vyplachování injekčních stříkaček před odběrem krve. Jedná se o heterogenní směs sulfonových polysacharidů s antikoagulačními účinky. Jeho funkcí je zabránění srážlivosti krve.

Anestetikum

Hormonální stimulace generačních ryb a následně i umělý výtěr vybraných ryb, probíhala zásadně v anestezii. K anestezii jsme používali přípravek 2-fenoxyethanol. Tento anestetický přípravek jsme použili v koncentraci $0,4 \text{ ml.l}^{-1}$. Anestezii jsme prováděli v kádích s roztokem anestetika.



Obr. č.7: Strukturální vzorec 2-fenoxyethanolu

3.3. Umělý výtěr

V roce 2015 jsme uskutečnili experiment s hormonálně indukovaným výtěrem amura bílého. Po selekci, zvážení a označení jednotlivých ryb, jsme přistoupili k samotnému umělému výtěru. Z důvodu ztížené manipulace s takto velkými rybami, jsme před každým úkonem byli nuceni použít anestetikum (Obr. č.11).

3.3.1. Hormonální injekce

Mlíčáky jsme injikovali intramuskulárně pomocí kapří hypofýzy v dávce $2,5 \text{ mg.kg}^{-1}$. S odběrem spermatu u amura zpravidla nebývá žádný problém. Všechny jikernačky jsme injikovali intramuskulárně, podle následujícího rozdělení do skupin:

Skupina A: mGnRHa ($12,5 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$) + Metoclopramide (20 mg.kg^{-1})

Skupina B: mGnRHa ($12,5 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$)

Skupina C: 0,9 % NaCl

3.3.2. Odběr krve

Velmi důležitou součástí našeho experimentu byly odběry krve jikernaček. Odběry byly provedeny u všech tří skupin, vždy z ocasního násadce (Obr. č.12). Z důvodu širší svaloviny v oblasti ocasního násadce bylo k odběrům potřeba použít delší zdravotnické jehly, tak abychom se dostali až k ocasní žíle. K prvnímu odběru, došlo před samotnou injekcí hormonálních přípravků. Další odběry krve již byly po aplikaci hormonálních přípravků. U každé z jikernaček byly provedeny tři odběry krve vždy po deseti hodinách dle následující tabulky.

Tab. č.5: Časové schéma jednotlivých odběrů vzorků krve

	I. odběr (0h)	II. odběr (0 + 10h)	III. odběr (0 + 20h)
Skupina A	14:00	00:00	10:00
Skupina B	15:00	01:00	11:00
Skupina C	14:30	00:30	10:30

Před každým odběrem krve bylo důležité, propláchnout injekční stříkačky heparinem. Při každém odběru krve jsme odebírali zhruba 2 ml krve. Dále jsme vzorky krve umístili do eppendorfek se zavíráním. Z důvodu ochrany vzorků, jsme označené vzorky ve zkumavkách ukládali do chladicí krabíčky (Obr. č.13). Vždy po odběru 21 vzorků jsme vložili všechny zkumavky do odstředivky značky Hettich Lab Technology (Mikro 200r). Zde jsme oddělovali plazmu a krevní částice po dobu 10 minut při 5 000 otáčkách za minutu a při teplotě 5 °C (Obr. č.14). Všechny vzorky plazmy jsme zamrazili na -80 °C a odeslali do spolupracující laboratoře v Polsku, pro stanovení koncentrace luteinizačního hormonu pomocí heterogenní metody ELISA.

3.3.3. Samotný umělý výtěr

U jikernaček, které dosáhly ovulace, jsme provedli samotný umělý výtěr. Tyto ryby jsme co nejšetrněji odlovili ze závěsných nádrží (Obr. č.15). Výtěr jsme dělali tzv. suchou metodou. Suchá metoda spočívá v důkladném otření břišní partie, především kolem urogenitální papuly a na celé bázi řitní ploutve (Obr. č.16). Je nutné zamezit vodě, aby se dostala k pohlavním produktům a tím je tak aktivovala. Jednotlivé jikernačky jsme na sucho vytřeli do předem vysušených čistých misek (Obr. č.17 a Obr. č.18). Dbali jsme na co nejšetrnější zacházení s jikrami, tak aby se jakoukoliv nadbytečnou manipulací nepoškodily. Po výtěru jikernaček a získání jiker jsme přidali mlíčí. Mlíčí jsme aplikovali do misek rovnou z mlíčáků (Obr. č.19). Velmi opatrně jsme promíchali pohlavní produkty a aktivovali jsme je přidáním vody. Po promíchání a aktivaci pohlavních produktů, jsme jikry jemně propláchli a nasadili k inkubaci do inkubačních nádrží s označením Dněpr. Každá inkubační nádrž byla obsazena jikrami z jedné jikernačky.

3.4. Zpracování výsledků

Všechny námi zjištěné a naměřené údaje jsme zaznamenávali do tabulek. Dále byly všechny informace zpracovány v počítačovém programu Microsoft Excel.

Byla vypočítána oplozenost, plodnostní index, latenční doba, procento ovulujících jikernaček. Dále jsme porovnávali hladiny LH u všech hormonálně ošetřených skupin jikernaček. Oplozenost byla vypočítána jako procento oplozených jiker k neoplozeným jikrám. Plodnostní index byl získán jako podíl průměrné hmotnosti vytřených jiker s průměrnou hmotností jikernaček. Latenční doba je časový interval od hormonální stimulace do samotného výtěru.

Vzorec pro výpočet plodnostního indexu (PI):

$$PI = \frac{mg}{m} * 100$$

mg = váha gonád (jiker)
m = váha jikernačky

Statistická analýza byla vyhodnocena pomocí počítačového programu STATISTICA (Statistica 12.0; StatSoft, Inc., USA). Rozdíly hladin LH v rámci jedné skupiny nebo mezi skupinami byly vyhodnoceny pomocí jednocestná ANOVA s následujícím Tukey's post – hoc testem. Rozdíly mezi počtem ovulovaných jikernaček ve všech skupinách byly vyhodnoceny pomocí Fisher's LSD testem. Rozdíly byly uznány signifikantními při $P < 0,05$. Naměřená data jsou prezentována jako průměr \pm střední chyba průměru (SEM).

4. Výsledky

4.1. Hladiny LH

Obě dvě hormonálně ošetřené skupiny vykazovaly signifikantně vyšší hladinu LH v porovnání s kontrolní skupinou, a to v jednom nebo více případech ($P < 0,05$).

V čase 0 h nebyl zjištěn signifikantní rozdíl v průměrné hladině LH mezi všemi třemi skupinami ($P < 0,05$).

Skupina A, ošetřená mGnRHa s DI, indukovala brzký nárůst LH a dosáhla maximální průměrné koncentrace LH ($71,49 \pm 14,93 \text{ ng.ml}^{-1}$) v čase 10 h. V tomto čase vykazovala skupina A signifikantní rozdíl v průměrné hladině LH od obou dvou skupin ($P < 0,05$). V čase 20 h následoval u skupiny A výrazný pokles koncentrace LH se signifikantním rozdílem od jejího maxima ($P < 0,05$).

Oproti tomu skupina B, ošetřená mGnRHa, vykazovala nesignifikantní pokles koncentrace LH v čase 10 h. Následovalo postupné signifikantní dosažení maximální koncentrace LH v čase 20 h od jejího minima v čase 10 h ($P < 0,05$). Maximální průměrná koncentrace LH u skupiny B v čase 20 h byla ($70,07 \pm 8,96 \text{ ng.ml}^{-1}$).

Kontrolní skupina C vykazovala signifikantní pokles koncentrace LH ve všech třech časech ($P < 0,05$). Signifikantní rozdíly v průměrné koncentraci LH mezi všemi skupinami byly zjištěny po 20 h od injekce ($P < 0,05$). Koncentrace LH v jednotlivých časech jsou přehledně uvedeny v Graf č.1.

4.2. Plodnostní charakteristiky

Ve skupině A – mGnRHa + Met, kde byla průměrná váha jikernaček $11\,714 \pm 352 \text{ g}$, došlo k ovulaci u jedné z injikovaných jikernaček, což je 14,28 %. Váha jiker byla 600 g. Index plodnosti byl 5,66 % a oplozenost byla 0,1 %.

Ve skupině B – mGnRHa, ve které byla průměrná váha jikernaček $11\,571 \pm 285 \text{ g}$, dosáhly ovulace čtyři injikované jikernačky, tedy 57,14 % injikovaných jikernaček. Průměrná váha jiker v této skupině byla $987,5 \pm 171,2 \text{ g}$. Plodnostní index byl $8,59 \pm 1,49 \%$. Oplozenost dosáhla $60,25 \pm 11,22 \%$.

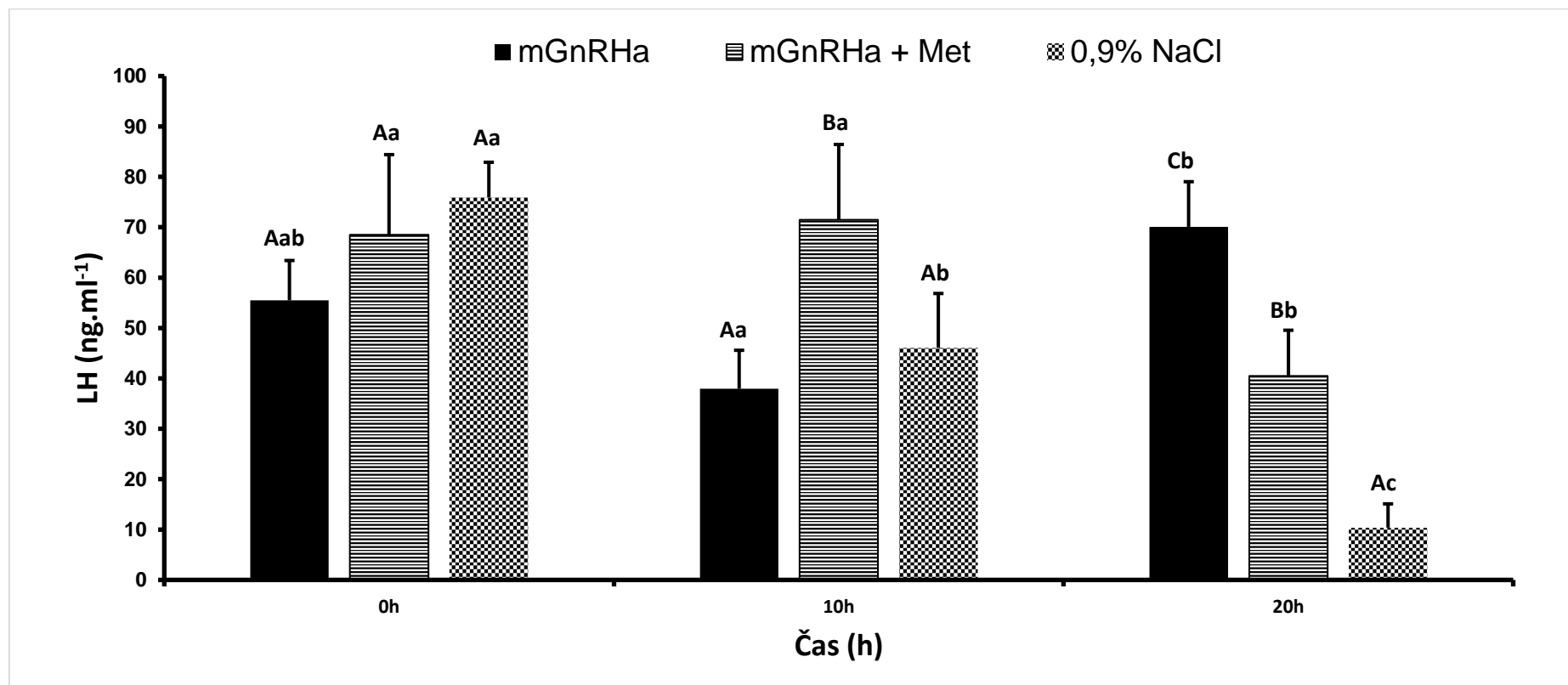
Ve skupině C byla průměrná váha jikernaček $11\,000 \pm 533 \text{ g}$. Tato kontrolní skupina byla injikována pouze 0,9 % NaCl. V této skupině nedošlo k žádné ovulaci.

Mezi oběmi hormonálně ošetřenými skupinami v procentu ovulace nebyl prokázán signifikantní rozdíl ($P < 0,05$). V procentu ovulovaných jikernaček mezi skupinou

A a C nebyl statisticky prokázán signifikantní rozdíl ($P < 0,05$). Mezi skupinou B a kontrolní skupinou C byl nalezen v procentu ovulace signifikantní rozdíl ($P < 0,05$). Všechny námi dosažené výsledky jsou uvedeny v Tab. č.6.

Tab. č.6: Výsledky experimentu s hormonálně indukovaným výtěrem amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*)

Skupina	Ošetření	hmotnost jikernaček (g)	injikovaných	ovulujících	interval latence (h)	oplozenost (%)
A	mGnRHa (12,5 µg.kg ⁻¹) + Met (20 mg.kg ⁻¹)	11 714 ± 352	7	1 ^{ab}	19,43	0,1
B	mGnRHa (12,5 µg.kg ⁻¹)	11 571 ± 285	7	4 ^a	18,2	60,25 ± 11,22
C	0,9 % NaCl	11 000 ± 533	7	0 ^b	-	-



Graf č.1: Výsledky průměrných hladin LH jikernaček amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) v čase

5. Diskuse

V současné době se využívá k nápravě reprodukční dysfunkce u Cypriniformes a Siluriformes hormonální terapie založená na kombinaci GnRHa s dopamin inhibitorem (De Leeuw a kol., 1985; Legendre a kol., 1996; Goos a kol., 1997; Szabó a kol., 2002; Podhorec a Kouřil, 2009). Nahrazení přirozeného GnRH chemicky syntetizovanými GnRH analogy, které jsou charakteristické aminokyselinovými substitucemi v pozicích citlivých na enzymatické degradace, má za následek zvýšení účinnosti sekrece LH, a to až stonásobně (Kouřil a kol., 2007; Podhorec a Kouřil, 2009). Avšak účinnost této hormonální terapie je přímo závislá na druhu ryby a místních podmínkách (Zohar a Mylonas, 2001). Výsledný efekt hormonální léčby je významně ovlivněn faktory, jako je teplota vody, světelný režim, fáze vývoje pohlavních žláz a napodobení podmínek, které v generačních rybách spouští reprodukční pudy (Kouřil a kol., 2007; Zohar a kol., 2010).

Cílem této práce byla optimalizace hormonální stimulace ovulace u amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) s využitím mGnRHa s DI na sekreci LH. U kontrolní skupiny, která nebyla hormonálně ošetřena, a byl jí aplikován pouze 0,9 % fyziologický roztok, nedošlo k ovulaci u žádné z jikernaček. Skupina, která byla injikována samotným mGnRHa bez dopamin inhibitoru, vykazovala nejúčinnější vyvolání ovulace (57,14 %) a i následnou oplozenost ($60,25 \pm 11,22$ %). Oproti tomu u skupiny injikované mGnRHa s dopamin inhibitorem (metoclopramide) jsme dosáhli jen velmi nízkého vyvolání ovulace (14,28 %) a i velmi nízké oplozenosti (0,1 %). Tento výsledek experimentu je velmi překvapivý, protože účinnost tohoto hormonální ošetření měla být zvýšena přítomností DI. Cyprinidae vykazují silnou dopamin inhibici předovulačního vzrůstu koncentrace LH (Trudeau, 1997; Popesku a kol., 2008), což naznačuje, že aplikace samotného mGnRHa bez DI, by neměla dosahovat dostatečného účinku ke stimulaci FOM a následné ovulaci (Peter a kol., 1991). Stejný fakt popisuje i Lin a kol. (1986), kteří jako první vyvinuli tzv. metodu Linpe. Tato metoda spočívá v aplikaci GnRHa s DI a využívá se právě u druhů ryb se silnou dopamin inhibicí LH sekrece. Možným vysvětlením velmi nízkého procenta oplozenosti u skupiny mGnRHa + met, by mohlo být nezachycení ovulace v této skupině. Toto tvrzení podporuje i fakt, že čas ovulace u amura je výrazně kratší než například u kapra obecného (*Cyprinus carpio*) nebo lína obecného (*Tinca tinca*), u kterých se zachycením ovulace nebývá takový problém

(Munro a kol., 1990; Kouřil a kol., 2011). Tento fakt potvrzuje i další možné vysvětlení, které spočívá v synchronizaci ovulace všech injikovaných jikernaček. Tento problém se vyskytuje u jikernaček, které byly injikovány kombinovanými hormonálními přípravky na bázi GnRH s DI. Spočívá ve velkých časových rozestupech mezi ovulacemi jednotlivých jikernaček, což by v případě amura mohl být problém (Peter a kol., 1993; Kozłowski, 1994; Kouřil a kol., 1996; Kouřil a kol., 2011).

Jeden z posledních experimentů zabývajících se hladinami LH u ryb z čeledi Cyprinidae, konkrétně u lína obecného, provedl Podhorec a kol. (2016). Zde u kontrolní skupiny injikované pouze 0,9 % NaCl a u skupiny ošetřené samotným metoclopramidem nedošlo k ovulaci u žádné z jikernaček. U skupiny injikované samotným Supergestranem [D-Tle⁶, Pro⁹, NEt] – mGnRH v dávce 25 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ došlo k ovulaci u 80% jikernaček a oplozenost byla $77,2 \pm 2,5$ %. Při aplikaci Supergestranu a DI metoclopramidu v dávce (mGnRHa 25 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ + met 20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) ovulovalo 90 % jikernaček a oplozenost byla $53,7 \pm 6,9$ %. Výsledky procenta ovulovaných jikernaček a jejich následných plodností se od našich výsledků značně liší. Avšak při porovnání křivek koncentrací LH si můžeme všimnout zajímavého zjištění. U samostatně aplikovaného GnRHa byl pozorován pozvolný vzestup koncentrace LH a dosažení maximální hladiny LH až krátce před ovulací. Oproti tomu aplikace GnRHa s DI způsobila téměř okamžité dosažení maximální koncentrace LH a následný pozvolný pokles až do doby ovulace. Stejně křivky hladin LH můžeme pozorovat i v našem experimentu s amurem bílým. Podhorec a kol. (2012) uskutečnil podobný experiment s línem. Zde skupina injikovaná jiným typem GnRH s DI [D-Ala⁶, Pro⁹, NEt] – mGnRH + metoclopramide také vykazovala rychlý nárůst koncentrace LH a postupného snižování s blížící se ovulací. Další skupina injikovaná tímto typem mGnRH bez DI vykazovala postupný nárůst koncentrace LH směrem k ovulaci. Z těchto křivek jasně vyplývá, že přidání DI k různému typu GnRH ovlivňuje koncentrace LH.

Ryby patří mezi poikilotermní živočichy (Kottelat a Freyhof, 2007), což znamená, že nejsou schopny významějším způsobem regulovat teplotu svého těla, která zásadně ovlivňuje všechny jejich fyziologické funkce. Teplota vody tedy ovlivňuje teplotu těla ryb (Redding a kol., 1993), má hlavní regulační roli (Pankhurst a King, 2010) a nepostradatelný vliv na ovulaci (King a kol., 2003). Právě teplota vody přímo ovlivňuje, v jakém intervalu k ovulaci dojde a zda k ní vůbec dojde (Horváth, 1978). Každý typ ryby je charakterizován jeho fyziologicky optimálním tepelným rozsahem pro průběh

endokrinních procesů. Pokud teplota významně překračuje optimální rozmezí, může dojít k přerušení nebo zastavení těchto procesů. V nejlepším případě má za následek zhoršení kvality pohlavních produktů nebo v nejhorším případě úplné selhání vitelogeneze (Nagahama a Yamashita, 2008). Optimální rozmezí teplot pro výtěr amura je 22 – 24 °C (Kouřil a kol., 2011). Právě teplota vody by mohla být dalším faktorem, který ovlivnil procento ovulovaných jikernaček v našem experimentu. Naznačuje to i experiment Kouřila a kol. (2006), který uskutečnil podobný pokus s býložravými rybami při čtyřech různých teplotách vody (21,8 – 24,8 °C), konkrétně s amurem, tolstolobikem bílým (*Hypophthalmichthys molitrix*) a tolstolobcem pestrým (*Hypophthalmichthys nobilis*). Všem experimentálním rybám byly podány čtyři různá hormonální ošetření (Supergestran, Ovopel, Dagin a CPE). Při podání Supergestranu dosáhlo ovulace 71 % jikernaček amura, což je v porovnání s naším výsledkem (57,14 %) lepší úspěšnost. Zdá se, že právě teplota vody (24,8 °C) mohla ovlivnit procento ovulace, protože maximální teplota vody při našem pokusu byla nižší (22,1 °C). Při hormonálním ošetření v podobě Ovopelu při teplotě vody 22,8 °C ovulovalo 59 % jikernaček, což odpovídá procentu ovulace po podání čistého mGnRHa v našem experimentu. Při teplotě 24,8 °C dosáhlo ovulace 99 % jikernaček amura a došlo ke zkrácení latenční doby z 20,9 h na 14,1 h. V našem experimentu při teplotě vody 21,2 – 22,1 °C byla latenční doba u skupiny (mGnRHa + met) 19,4 h a u skupiny (mGnRHa) 18,2 h. Pro srovnání při experimentu Brzusky (1999) po podání ovopelu při teplotě 23 °C ovulovalo 80 % jikernaček amura s dobou latence 20 h. Při experimentu s využitím GnRHa s DI metoclopramidem u kapra obecného byla při poměrně vysoké teplotě 28 °C latenční doba 14 h. Podle Wanga a kol. (2010) je latenční doba ovlivněna nejen teplotou vody ale také typem hormonálního přípravku a druhem ryby.

Třetím hormonálním ošetřením, které použil Kouřil a kol. (2006) byl přípravek Dagin obsahující sGnRHa [D-Arg⁶, Pro⁹, NET] a DI – metoclopramide. Dagin vyvolal ovulaci u 67 – 100% jikernaček amura, u tolstolobce 100 % a u tolstolobika neovulovala žádná z jikernaček. Ve čtvrté skupině injikované CPE ovulovalo 67 % jikernaček amura, 100 % jikernaček tolstolobika a 100 % jikernaček tolstolobce. Stejného výsledku po podání CPE u tolstolobika a amura dosáhla Brzuska (1999), kde ovulovalo 100 % jikernaček tolstolobika a 60% jikernaček amura s oplozeností $62,6 \pm 26,7$ %. Výsledky počtu ovulovaných jikernaček amura a jejich průměrných oplozeností po podání CPE z experimentu Brzusky (1999) jsou srovnatelné s našimi výsledky po podání čistého

mGnRHa. Při dalším experimentu Brzusky (2005) s kaprem obecným dosáhla skupina injikovaná ovopelem nejlepší oplozenosti (95 %). Druhý nejlepší přípravek byla CPE (86 %) a třetí Dagin (80%). Tyto výsledky s využitím CPE nejsou až tak překvapivé, ikdyž většina autorů uvádí vyšší úspěšnost po aplikaci syntetických liberínů s nebo bez DI. Hormonální ošetření v podobě CPE u amura je na rybích líhních v praxi stále velmi rozšířené. Při dalším podobném experimentu by bylo dobré injikovat ještě jednu skupinu jikernaček amura s využitím CPE. Srovnání plodnostních charakteristik mezi skupinami injikovanými čistým GnRH, GnRH s DI a CPE by mohlo přinést zajímavý náhled na tuto problematiku.

Kouřil a kol. (1996) zaznamenal u jeho experimentu při aplikaci CPE u sumce velkého (*Silurus glanis*) ovulaci u 50 % injikovaných jikernaček. Vyšší účinnosti dosáhl při aplikaci syntetického hormonálního přípravku obsahujícího GnRHa, kde dosáhlo ovulace 70 – 80 % jikernaček. Nejlepší výsledek vykazovala skupina injikovaná GnRHa s DI, kde ovulovalo 85 % jikernaček. Z těchto experimentů vyplývá, že aplikace GnRHa s DI vykazuje minimálně stejnou nebo vyšší účinnost než podání CPE. Jikernačky po injikaci GnRHa s DI dosahují vyššího procenta ovulace, vyšší hmotnosti jiker a lepší oplozenosti (Brzuska, 2001), což potvrzuje i Dorafshan a kol. (2003), který při použití GnRHa s DI dosáhl výrazně vyšší relativní plodnosti u kapra obecného. Tyto výsledky naznačují, že u čeledí ryb jako jsou Cyprinidae a Siluridae, u kterých je velmi silná dopamin inhibice, lze doporučit hormonální přípravky na bázi GnRH s DI. Linard a kol. (1995) uvádí, že například u lososa kisuč (*Oncorhynchus kisutch*) je dopamin inhibice velmi nízká nebo úplně chybí. Zohar a Mylonas (2001) tento fakt popisuje i u většiny komerčně významných mořských druhů, jako jsou například sekavec tajvanský (*Paramisgurnus dabryanus*) nebo pacejn bílý (*Parabramis pekinensis*). Faktem je, že v průběhu celého reprodukčního cyklu se mění síla dopamin inhibice a je pravděpodobně nejvyšší v období tření (Linard a kol. 1995).

Náš experiment měl ukázat přítomnost dopamin inhibice sekrece LH u amura bílého. Z křivek vycházejících z průměrných koncentrací LH u námi hormonálně ošetřených jikernaček vyplývá, že je u tohoto druhu dopamin inhibice. Dále jsme chtěli optimalizovat hormonální ošetření na základě využití syntetických liberínů s nebo bez DI. U skupiny injikované pouze mGnRHa jsme dosáhli částečně pozitivního výsledku, kdy tato skupina vykazovala procento ovulace vyšší než 50 %. Bohužel u skupiny injikované mGnRHa +

met jsme dosáhli jen velmi nízkého procenta ovulace a i následné oplozenosti. Nemůžeme tedy s jistotou říci, který z hormonálních přípravků u amura je nejúčinnější.

6. Závěr

Aplikace čistého syntetického mGnRHa indukovala postupný nárůst průměrné hladiny luteinizačního hormonu a dosažení jejího maxima až v době těsně před samotnou ovulací. Oproti tomu u skupiny injikované mGnRHa s metoclopramidem koncentrace luteinizačního hormonu, dosáhla maxima po aplikaci hormonálního přípravku a na rozdíl od mGnRHa klesala s blížící se ovulací. Průměrné hladiny LH v průběhu celého experimentu poukazují na velmi silnou dopamin inhibici u amura bílého.

U skupiny, která byla hormonálně ošetřena pomocí mGnRHa jsme dosáhli 57,14 % ovulovaných jikernaček. Doba latence byla 18,2 h. Plodnostní index byl $8,59 \pm 1,49$ %. Průměrná oplozenost dosáhla celkem vysoké procentuální úspěšnosti, a to $60,25 \pm 11,22$ %. Ve skupině injikované mGnRHa s metoclopramidem dosáhla ovulace pouze jedna z jikernaček (14,28 %). Latenční doba v této skupině byla delší, konkrétně 19,43 h. Plodnostní index byl také nižší než ve skupině ošetřené jen mGnRHa, a to 5,66 %. Oplozenost v této skupině byla velmi nízká. Dosáhla pouhých 0,1 %.

Z procenta ovulovaných jikernaček a jejich plodnostních charakteristik vyplývá, že užití samotného mGnRHa je účinnější než využití mGnRHa s dopamin inhibitorem. Tyto výsledky bohužel nepotvrzují předem stanovenou teorii, že mGnRHa s dopamin inhibitorem způsobí větší procento ovulovaných jikernaček amura.

Z námi dosažených výsledků nemůžeme tedy s jistotou konstatovat, který hormonální přípravek na bázi syntetických liberínu s nebo bez dopamin inhibitoru, je nejúčinnější pro vyvolání ovulace u amura bílého. Avšak dosáhli jsme dílčího úspěchu u u skupiny ošetřené čistým mGnRHa, kde v této skupině ovulovalo více než 50 % jikernaček a oplozenost dosahovala 60%.

Závěrem lze říci, že při opakování tohoto experimentu na větším počtu jikernaček, bychom mohli dospět k přesnějším výsledkům, které by pomohly v této problematice.

7. Přehled použité literatury

- Adams, B. A., Tello, J. A., Erchegeyi, J., Warby, C., Hong, D. J., Akinsanya, K. O., Mackie, G. O., Vale, W., Rivier, J. E., Sherwood, N. M., 2003: Six novel gonadotropin-releasing hormones are encoded as triplets on each of two genes in the protochordate, *Ciona intestinalis*. *Endocrinology*, 144, 1907-1919.
- Adams, B. A., Vickers, E. D., Warby, C., Park, M., Fischer, W. H., Grey Craig, A., Rivier, J. E., Sherwood, N. M., 2002: Three forms of gonadotropin - releasing hormone, including a novel form, in a basal salmonid, *Coregonus clupeaformis*. *Biology of reproduction*, 67, 232-239.
- Adams, B. M., Bertrand, K. N., Brown, M. L., Auger, D., 2011: Genetic structure of grass carp populations in the Missouri and Mississippi River basins, USA. *Praire Nat.* 43(3/4): 84–91
- Alijev, D., S., 1965: Razmnoženije belogo amura (*Ctenopharyngodon idella*), belogo i pestrogo tolstolobikov (*H. molitrix*, *A. nobilis*) vselenych bassejn Amu-Darji. *Vopr. Ichtiol.*, 5 (4): 593-599.
- Alijev, D., S., 1966: Itogi issledovanija po razvedeniju i chozjajstvennomu ispol'zovaniju rastitel'nojadnych ryb v Turkmenii, In: *Rybochoz. ispol'z. Rastitel'nojadnych ryb.* Moskva, pp, 10-16.
- Avault, J. W., Smitherman, R. O., & Shell, E. W., 1968: Evaluation of eight species of fish for aquatic weed control. *FAO Fisheries Report*, 44, 109-122.
- Barbaro, A., Francescon, A., Bertotto, D., Bozzato, G., Di Maria, I., Patarnello, P., Furland, F., Colombo, L., 2002: More effective induction of spawning with long-acting GnRH agonist in the shi drum, *Umbrina cirrosa* L. (Sciaenidae, Teleostei), a valuable candidate for Mediterranean mariculture. *Journal of Applied Ichthyology*, 18, 192-199.
- Baruš, V. a Oliva, O., 1995b: *Mihulovci – Petromyzontes a Ryby – Osteichthyes (2)*. Academia, Praha, 674 s.
- Beck, R. H., 1996: Risk assessment for the introduction of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Report to the Canadian Non-Native Species Risk Analysis Committee, Alberta, Canada. 94 p.
- Bentley, P. J., 1998: *Comparative vertebrate endocrinology*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 562 pp.
- Bessmertnaja, R., E., 1969: Voprosy pitanija ličinok belogo amura. In: *Novyje issledovanija po ekologii i razvedeniju rastitel'nojadnych ryb.* Moskva, pp. 1954-1958.
- Billard, R., 1986: Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reproduction Nutrition Développement*, 26, 877–920.
- Bogerd, J., Li, K. W., Janssen-Dommerholt, C., Goos, H., 1992: Two gonadotropin-releasing hormones from African catfish (*Clarias gariepinus*). *Biochemical and biophysical research communications*, 187, 127-134.
- Bosma, P. T., Rebers, F. E., Van Dijk, W., Willems, P. H., Henk, J. T., Schulz, R. W., 2000: Inhibitory and stimulatory interactions between endogenous gonadotropin-releasing hormones in the African catfish (*Clarias gariepinus*). *Biology of reproduction*, 62, 731-738.

- Brzuska, E., 2005: Artificial spawning of carp (*Cyprinus carpio* L.): differences between females of Polish strain 6 and Hungarian strain W treated with carp pituitary homogenate, Ovopel or Dagin. *Aquaculture research*, 36(10), 1015-1025.
- Brzuska, E. 2001: Artificial spawning of European catfish *Silurus glanis* L.: differences between propagation results after stimulation of ovulation with carp pituitary and Ovopel. *Aquaculture Research*, 32, 11-19.
- Brzuska, E., 1999: Artificial spawning of herbivorous fish : use of an LHRH-a to induce ovulation in grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes) and silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes). *Aquaculture Research* 30: 849-856.
- Carolsfeld, J., Powell, J. F., Park, M., Fischer, W. H., Craig, A. G., Chang, J. P., Rivier, J. E., Sherwood, N. M., 2000: Primary structure and function of three gonadotropin-releasing hormones, including a novel form, from an ancient teleost, herring. *Endocrinology*, 141, 505-512.
- Chapman, D. C., Wang, N., 2006: Notes on the translation and use of “a study of the early development of Grass Carp, Black Carp, Silver Carp, and Bighead Carp in the Yangtze River, China”. In *Early development of four cyprinids native to the Yangtze River, China*. Edited by D. C. Chapman. U.S. Geological Survey Data Series 239: 1–9.
- Chen, C. C., Fernald, R. D., 2008: GnRH and GnRH receptors: distribution, function and evolution. *Journal of Fish Biology*, 73, 1099–1120.
- Crossman, E. J., Nepszy, S. J., Krause, P., 1987: The first record of grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, in Canadian waters. *Can. Field-Nat.* 10(4): 584-586.
- Cudmore, B., Mandrak, N., E., 2004: Biological synopsis of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Canadian manuscript report of fisheries and Aquatic Sciences, 2705(7).
- Čítek J., Krupauer V., Kubů F., 1993: *Rybníkářství*. Informatorium, Praha, 282 s.
- Čítek J., Krupauer V., Kubů F., 1998: *Rybníkářství*. 3. vyd. Informatorium, Praha, 309 s.
- De Leeuw, R., Habibi, H. R., Nahorniak, C. S., Peter, R. E., 1989: Dopaminergic regulation of pituitary gonadotrophin- releasing hormone receptor activity in the goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of Endocrinology*, 121, 239–247.
- De Leeuw, R., Resink, J. W., Rooyackers, E. J. M., Goos, H. J., 1985: Pimozide modulates the luteinizing hormone - releasing hormone effect on gonadotrophin release in the African catfish, *Clarias lazera*. *General and comparative endocrinology*, 58, 120-127.
- Dodd, J. M., 1983: 2 Reproduction in Cartilaginous Fishes (*Chondrichthyes*). *Fish physiology*, 9, 31-95.
- Donaldson, E. M., 1996: Manipulation of reproduction in farmed fish. *Animal Reproduction Science*, 42, 381-392.
- Dorafshan, S., Mostafavi, H., Amiri, B. M., 2003: Induction of spawning in common carp (*Cyprinus Carpio*) using pituitary extract and GnRH analogue in combination with Domperidone. *Iranian journal of biotechnology*, 1(4).
- Drahotušský, Z., Novák, J., 2000: *Akvaristika*, Brno, Nakladatelství Jota, 298.
- Drori S., Ofir M., Levavi-Sivan B., Yaron Z., 1994: Spawning induction in common carp (*Cyprinus carpio*) using pituitary extract or GnRH superactive analogue combined with metoclopramide: analysis of hormone profile, progress of oocyte maturation and dependence on temperature. *Aquaculture*, 119, 393–407.

- Dubois, E. A., Zandbergen, M. A., Peute, J., Goos, H. J. 2002: Evolutionary development of three gonadotropin-releasing hormone (GnRH) systems in vertebrates. *Brain research bulletin*, 57, 413-418.
- Dubský, K., 1998: *Základy chovu vedlejších druhů ryb*. Vyd. 1., 35 s., Praha: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR.
- Dufour S., Weltzien, F. A., Sebert, M. E., Le Belle, N., Vidal, B., Vernier, P., Pasqualini, C., 2005: Dopaminergic inhibition of reproduction in teleost fishes: ecophysiological and evolutionary implications. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1040, 9–21.
- Fedorenko, A. Y., Fraser, F. J., 1978: A review of the biology of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*, Val.) and its evaluation as a potential weed control agent in British Columbia. Technical Report. Fisheries and Marine Service of Canada (Canada). no. 786.
- Fernald, R. D., White, R. B., 1999: Gonadotropin-releasing hormone genes: phylogeny, structure, and functions. *Frontiers in neuroendocrinology*, 20, 224-240.
- FishBase., 2004: World Wide Web electronic publication. Froese, R. and D. Pauly. Editors. www.fishbase.org, version (10/2004).
- Fontenele, O., 1952: Notas sobre os órgãos adesivos dos tucunarés (Actinopterygii, Cichlidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 12, 363-368.
- Gela, D., Kocour, M., Rodina, M., Flajšhans, M., Beránková, P., Linhart, O., 2009. Technologie řízené reprodukce kapra obecného (*Cyprinus carpio* L.). Edice Metodik (technologická řada), FROV JU, Vodňany, č. 79, 22 s.
- Goodchild, C. D., 1999: Non-indigenous freshwater fish utilized in the live food fish industry in Ontario: A summary of information. Ontario Ministry of Natural Resources. 79 p.
- Goos, H. T., Bosma, P. T., Bogerd, J., Tensen, C. P., Li, K. W., Zandbergen, M. A., Schulz, R. W., 1997: Gonadotropin-releasing hormones in the African catfish: molecular forms, localization, potency and receptors. *Fish Physiology and Biochemistry*, 17, 45-51.
- Gorbach, E. I., 1970: Condition and fatness of the grass carp (*Ctenopharyngodon idella* Val.) in the Amur Basin. *J. Ichthyol.* 11:880-890.
- Gorbman, A., 1983: 1 Reproduction in Cyclostome Fishes and its Regulation. *Fish physiology*, 9, 1-29.
- Guilgur, L. G., Moncaut, N. P., Canario, A. V., Somoza, G. M., 2006: Evolution of GnRH ligands and receptors in gnathostomata. *Comparative Biochemistry and Physiology: Molecular & Integrative Physiology*, 144, 272-283.
- Hanel, L., Lusk, S., 2005: *Ryby a mihule České republiky: rošíření a ochrana = Fishes and lampreys of the Czech Republic : distribution and conservation*. Vyd. 1. Vlašim: Český svaz ochránců přírody Vlašim, 2005, 447 s.
- Harder, W., 1975a: *Anatomy of fishes Part I: Text*. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, Germany, 612 pp.
- Hartman, P., 1987: Chov býložravých ryb u VHJ Státní rybářství. Sborník referátů, „Perspektivní druhy ryb pro ČSSR“, České Budějovice, ČSVTS Vodňany: 48-52.
- Hasler, A. D., Meyes, R. K., Field, H. M., 1940: The use of hormones for the conservation of muskellunge, *Esox masquinongy immaculatus* Garrard. *Copeia*, 1940, 43–46.
- Heyrati, F. P., Mostafavi, H., Toloei, H., Dorafshan, S., 2007: Induced spawning of kutum, *Rutilus frisii kutum* (Kamenskii, 1901) using (D-Ala⁶, Pro⁹-NET) Gn-RH_a combined with domperidone. *Aquaculture*, 265, 288–293.

- Hickling, C., F., 1962: Fish culture. London.
- Hofmann, J., Novák, J., 1996: Akvaristika: Jak chovat tropické ryby jinak a lépe. Praha. X-Egem - Nova, 197.
- Horváth, L., 1978: Relation between ovulation and water temperature by farmed cyprinids. *Aquacultura Hungarica*, 1, 58–65.
- Horváth, L., Szabó, T., Burke J., 1997: Hatchery testing of GnRH analogue - containing pellets on ovulation in four cyprinid species. *Polish Archives of Hydrobiology* 44 (1-2): 221-226
- Horváthová, T. G., Horváth, L., 1974a: Rozmnožování býložravých ryb a odchov jejich plůdku do stáří 3-4 týdnů po vykulení (překlad M. Merten). *Československé rybníkářství*, 1: 3-8.
- Horváthová, T. G., Horváth, L., 1974b: Rozmnožování býložravých ryb a odchov jejich plůdku do stáří 3-4 týdnů po vykulení (překlad M. Merten). *Československé rybníkářství*, 2: 3-12.
- Chang, J. P., Jobin, R. M., Wong, A. O., 1993: Intracellular mechanisms mediating gonadotropin and growth hormone hormone release in the goldfish, *Carassius auratus*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 11, 25–33.
- Charitonova, N. N., 1968: Sovmestnoje vyraščivaniye trechletkov rastitel'nojadnykh ryb vmeste s karpom. In: *Nov. Issled. po ekol. i razved. rastitel'nojadnykh ryb*. Moskva, pp. 89-94.
- Chilton, E. W., Muoneke M. I., 1992: Biology and management of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*, *Cyprinidae*) for vegetation control: a North American perspective. *Rev. Fish Bio. Fish.* 2:283-320.
- Jelínek, P., Koudela, K., Doskočil, J., Illek, J., Kotrbáček, V., 2003: Fyziologie hospodářských zvířat. MZLU Brno, 1, 414.
- Jones, L. A., Mandrak, N. E., Cudmore, B., 2017: Updated (2003–2015) Biological Synopsis of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*).
- Kah, O., Chambolle, P., Thibault, J., Geffard, M., 1984: Existence of dopaminergic-neurons in the preoptic region of the goldfish. *Neuroscience Letters*, 48, 293–298.
- Kah, O., Lethimonier, C., Somoza, G., Guilgur, L. G., Vaillant, C., Lareyre, J. J., 2007: GnRH and GnRH receptors in metazoa: a historical, comparative, and evolutive perspective. *General and comparative endocrinology*, 153, 346-364.
- Kaminski, R., Kuznierz, J., Myszkowski, L., Wolnicki, J., 2004: The first attempt to artificially reproduce the endangered cyprinid lake minnow *Eupallasella perenurus* (Pallas). *Aquaculture International*, 12, 3–10.
- Karpevič, A. F., 1966: Itogi i perspektivy po akklimatizacii ryb i bespozvonočnykh v južnykh morjach SSSR. In: *Akklim. ryb i bespozv. V vodojemach SSSR*. Moskva, pp. 50 – 69.
- Kawauchi, H., Suzuki, K., Itoh, H., Swanson, P., Naito, N., Nagahama, Y., Nozaki, M., Nakai, Y., Itoh, S., 1989: The duality of fish gonadotropins. *Fish Physiol. Biochem.*, 7, 29 -38
- Kime, D. E., 1993: Classical and non-classical reproductive steroids in fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 3, 160-180.
- King, H. R., Pankhurst, N. W., Watts, M., Pankhurst, P. M., 2003: Effect of elevated summer temperatures on gonadal steroid production, vitellogenesis and egg quality in female Atlantic salmon. *J. Fish Biol.* 63, 153–167.
- King, J. A., Millar, R. P., 1991: Gonadotropin-releasing hormones. *Vertebrate endocrinology: fundamentals and biomedical implications*, 4(Part B), 1-31

- King, J. A., Millar, R. P., 1995: Evolutionary aspects of gonadotropin-releasing hormone and its receptor. *Cellular and molecular neurobiology*, 15, 5-23.
- Kolářová, J., Velíšek, J., Nepejchalová, L., Svobodová, Z., Kouřil, J., Hamáčková, J., Máchová, J., Piačková, V., Hajšlová, J., Holadová, K., Kocourek, V., Klimánková, E., Modrá, H., Dobšíková, R., Groch, L., Novotný, L., 2007: Anestetika pro ryby. Edice Metodik, VÚRH JU Vodňany, č. 77: 3 – 19.
- Kottelat, M., Freyhof, J., 2007: Handbook of European freshwater fishes. Publications Kottelat, Cornol and Freyhof, Berlin, 646 pp.
- Kouřil J., Chábera S., 1976: Artificial spawning of tench (*Tinca tinca* L.). Bulletin VURH Vodňany, 12, 7–13.
- Kouřil J., Podhorec, P., Stejskal, V., Polícar, T., Křišťan, J., Drozd, B., 2011: Optimalizace metod hormonálně indukované ovulace při řízení reprodukci vybraných hospodářsky významných teplomilných druhů ryb. Edice Metodik, FROV JU Vodňany, č. 120, 26 s.
- Kouřil J., Podhorec, P., 2011: Umělý výtěr lína. Edice Metodik (technologická řada), FROV JU, Vodňany, č. 113, 24 s.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Bekh, V., Kubryashev, S., Kubryasheva, M., Barth, T., Kozák, P., 2006: Application of preparations containing GnRH analogues with/without dopaminergic inhibitor to ovulation in bighead carp *Aristichthys nobilis*, silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* and grass carp *Ctenopharyngodon idella*. In: Proc. Conf. AQUA 2006 (CD-ROM), Firenze (Italy), WAS and EAS, pp. 483.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Hulová, I., Barthová, J., 1999: Hormonální indukce ovulace u kapra pomocí čištěného extraktu kapří hypofýzy. Edice Metodik, VÚRH JU, Vodňany, č 61, 4 s.
- Kouřil, J., Hamáčková, J., Linhart, O., Barth, T., Glubokov, A. I., Haffray, P., 1996: Induced ovulation of European catfish (*Silurus glanis*) by carp pituitary, GnRH analogue and/or dopamine inhibitor isofloxythepin. *Zivočišná Výroba-UZPI*, 41.
- Kouřil, J., Svoboda, A., Hamáčková J., Kalab, P., Kolářová, J., Lepičová, A., Sedova, M., Savina, L., Rendon, P. M., Svobodová, Z., Barth, T., Vykusová, B., 2007: Repeated administration of different hormonal preparations for artificial propagation and their effects on reproduction, survival and blood biochemistry profiles of female tench (*Tinca tinca* L.). *Czech Journal of Animal Science*, 52, 183–188.
- Kozłowski B., 1994: Practice of hormonal stimulation of Cyprinidae reproduction. IRS, Zakład Upowszechniania Postępu. Broszura Wdrożeniowa, 162, 1-41.
- Kroupová, H., Máchová, J., Svobodová, Z., 2005: Nitrite influence on fish: a review. *Veterinarni Medicina*, 50, 461–471.
- Krupauer, V., 1965: Převoz plůdku býložravých ryb ze SSSR. *Bul. VÚRH Vodňany*, 3: 29-32.
- Krupauer, V., 1966: Aklimatizace býložravých ryb (Studijní zpráva). *Studijní inf., živ. výroba, ÚVTI Praha*: 108 s.
- Krupauer, V., 1969: Aklimatizace býložravých ryb v Evropě. *ÚVTI MZVLH*, 62: 87 – 124.
- Krupauer, V., 1971: Stavba těla bílých amurů v prvních třech letech aklimatizace v jihočeských rybnících. *Práce VÚRH Vodňany*, 9: 49-98.
- Krupauer, V., 1974: Zásady chovu amura bílého v rybnících. ČZA, ÚVI Praha, 24 s.
- Krupauer, V., 1989: Býložravé ryby. Vyd. MZVŽ a ČRS, Praha, 115 pp.

- Krupauer, V., Kubů, F., 1965: Možnosti aklimatizace býložravých ryb v Československu. Čs. rybář, 20 (9): 136-137.
- Kubů, F., Lusk, S., 1962: První zkušenosti po výlovu bílého amura u nás. Čs. rybářství, 1962, 3: 19.
- Kucharczyk, D., Kujawa, R., Mamcarz, A., Targonska-Dietrich, K., Wyszomirska, E., Glogowski, J., Babiak, I., Szabo, T., 2005: Induced spawning in bream (*Abramis brama*) using pellets containing GnRH. Czech Journal of Animal Science, 3, 89–95.
- Legendre, M., Linhart, O., Billard, R., 1996: Spawning and management of gametes, fertilized eggs and embryos in Siluroidei. Aquatic Living Resources, 9, 59-80.
- Lethimonier, C., Madigou, T., Muñoz-Cueto, J. A., Lareyre, J. J., Kah, O., 2004: Evolutionary aspects of GnRHs, GnRH neuronal systems and GnRH receptors in teleost fish. General and comparative endocrinology, 135, 1-16.
- Lin, S. Y., 1935: Life history of waan ue, *Ctenopharyngodon idella* (Cuv. And Val.). Lingnan Science Journal, 14(1): 129-135.
- Linard, B., Bennani, S., Saligaut, C., 1995: Involvement of estradiol in a catecholamine inhibitory tone of gonadotropin release in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). General and comparative endocrinology, 99(2), 192-196.
- Linhart, O., Rodina, M., Boryshpolets, S., 2011: Hodnocení čerstvého spermatu ryb. Edice metodik. Technologická řada (č. 114). FROV JU, Vodňany, 24 s.
- Lusk, S., Krčál, J., 1983b: Těžba ryb z údolních nádrží z povodí řeky Dyje. Živoč. výroba, 28 (11): 809-816
- Mananos E., Duncan N., Mylonas C., 2009: Reproduction and control of ovulation, spermiation and spawning in cultured fish. 3–80. In: Cabrita E., Robles V., Herraes P. (eds.): Methods in Reproductive Aquaculture: Marine and Freshwater Species. CRC Press, Florida. 549 pp.
- Mareš J., Suchý J., Hochman L., 1970: Rybníkářství. SZN Praha, 387 s.
- Matsuo, H., Baba, Y., Nair, R. M., Arimura, A., Schally, A. V., 1971: Structure of the porcine LH- and FSH- releasing hormone I. The proposed amino acid sequence. Biochemical and biophysical research communications, 43, 1334–1339.
- Migita, M., Matsumoto, J., Kinoshita, H., Sasaki, A., Ashikawa, I., 1952: Studies on the hypophyseal hormone of fish: I. Stimulating effect upon ovulation of trout. Bulletin of the Japanese Society for the Science of fish, 17, 25–31.
- Mikešová, J., 1995: Možnosti přirozené reprodukce amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*) v nových místech jeho rozšíření vlivem introdukce (přehled). Bull. VÚRH Vodňany, 4: 124-132.
- Mikolajczyk, T., Chyb, J., Szczerbik, P., Sokolowska-Mikolajczyk, M., Epler, P., Enright, W. J., Filipiak, M., Breton, B., 2004: Evaluation of the potency of azagly-nafarelin (GnRH analogue), administered in combination with different formulations of pimozide, on LH secretion, ovulation and egg quality in common carp (*Cyprinus carpio* L.) under laboratory, commercial hatchery and natural conditions. Aquaculture, 234, 447–460.
- Missale C., Nash S. R., Robinson S. W., Jaber M., Caron M. G., 1998: Dopamine receptors: from structure to function. Physiological Reviews, 78, 189–225.

- Miyamoto, K., Hasegawa, Y., Nomura, M., Igarashi, M., Kangawa, K., Matsuo, H., 1984: Identification of the second gonadotropin-releasing hormone in chicken hypothalamus: evidence that gonadotropin secretion is probably controlled by two distinct gonadotropin-releasing hormones in avian species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81, 3874–3878.
- Montaner, A. D., Park, M. K., Fischer, W. H., Craig, A. G., Chang, J. P., Somoza, G. M., Rivier, J. E., Sherwood, N. M., 2001: Primary structure of a novel gonadotropin-releasing hormone in the brain of a teleost, Pejerrey. *Endocrinology*, 142, 1453–1460.
- Munro, A. D., Scott, A. P., Lam, T. J. 1990: Reproductive seasonality in teleosts: environmental influences. CRC press.
- Mylonas, C. C., Fostier, A., Zanuy, S., 2010: Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and comparative endocrinology*, 165(3), 516-534.
- Mylonas, C. C., Fostier, A., Zanuy, S., 2010: Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and comparative endocrinology*, 165, 516-534.
- Mylonas, C. C., Scott, A. P., Zohar, Y., 1997: Plasma gonadotropin II, sex steroids, and thyroid hormones in wild striped bass (*Morone saxatilis*) during spermiation and final oocyte maturation. *General and Comparative Endocrinology*, 108, 223–236.
- Mylonas, C. C., Zohar, Y., 2001: Endocrine regulation and artificial induction of oocyte maturation and spermination in basses of the genus *Morone*. *Aquaculture*, 202, 205–220.
- Mylonas, C. C., Zohar, Y., 2007: Promoting oocyte maturation, ovulation and spawning in farmed fish. In *The Fish Oocyte*, 437-474.
- Nagahama, Y., Yamashita, M., 2008: Regulation of oocyte maturation in fish. *Development, growth & differentiation*, 50: 195-219.
- Nelson, J. S., 2006: *Fishes of the World*. 4th ed. John Wiley and Sons, New York. 601 pp.
- Nichols, J. T., 1943: *The fresh-water fishes of China. Natural history of Central Asia*, Vol. IX. Am. Mus. Nat. Hist., New York, 322 pp.
- Okubo, K., Nagahama, Y., 2008: Structural and functional evolution of gonadotropin-releasing hormone in vertebrates. *Acta Physiologica*, 193, 3-15.
- Omeljaniuk, R. J., Shih, S. H., Peter, R. E., 1987: In-vivo evaluation of dopamine receptor-mediated inhibition of gonadotrophin secretion from the pituitary gland of the goldfish, *Carassius auratus*. *Journal of Endocrinology*, 114, 449–458.
- Opuszynski, K., a J., V., Shireman. 1995: Herbivorous fishes: culture and use for weed management. In cooperation with James E. Weaver, Director of the United States Fish and Wildlife Service's National Fisheries Research Center. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Page, L. M., Burr, B. M., 1991: *A field guide to freshwater fishes of North America north of Mexico*. Peterson Field Guide Series, Houghton Mifflin Co., Boston.
- Pankhurst, N. W., Thomas, P. M., 1998: Maintenance at elevated temperature delays the steroidogenic and ovulatory responsiveness of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to luteinizing hormone releasing hormone analogue. *Aquaculture*, 166, 166—177.
- Pankhurst, N. W., King, H. R., 2010.: Temperature and salmonid reproduction: implications for aquaculture. *J. Fish Biol.* 76, 69–85.

- Peter, R. E., Trudeau, V. L., Sloley, B. D., 1991: Brain regulation of reproduction in teleosts. *Bulletin of the Institute of Zoology, Academia Sinica*, 16, 89–118.
- Peter, R. E., Lin, H. R., Van Der Kraak, G., 1988: Induced ovulation and spawning of cultured freshwater fish in China: advances in application of GnRH analogues and Dopamine antagonists. *Aquaculture*, 74, 1–10.
- Peter, R. E., Lin, H. R., Van Der Kraak, G., Little, M., 1993: Releasing hormones, dopamine antagonists and induced spawning. *Recent advances in aquaculture*, 4, 25-30.
- Peter, R. E., Yu, K. L., 1997: Neuroendocrine regulation of ovulation in fishes: basic and applied aspects. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 7, 173-197.
- Pankhurst, N. W., King, H. R., 2010.: Temperature and salmonid reproduction: implications for aquaculture. *J. Fish Biol.* 76, 69–85.
- Podhorec, P., Kouril, J., 2009: Induction of final oocyte maturation in Cyprinidae fish by hypothalamic factors: a review, *Vet. Med.* 54: 97-110.
- Podhorec, P., Socha, M., Ammar, I. B., Sokolowska-Mikolajczyk, M., Brzuska, E., Milla, S., Gosiewski, G., Stejskal, V., Simko, M., Kouril, J. 2016: The effects of GnRH α with and without dopamine antagonist on reproductive hormone levels and ovum viability in tench *Tinca tinca*. *Aquaculture*, 465, 158-163.
- Podhorec, P., Socha, M., Sokolowska-Mikolajczyk, M., Policar, T., Svinger, V. W., Drozd, B., Kouril, J. 2012: Dopamine control of LH release in the tench (*Tinca tinca*). *General and comparative endocrinology*, 175(1), 34-38.
- Popesku, T. J., Martyniuk, J. C., Mennigen, J., Xiong, H., Zhang, D., Xia, X., Cossins, R. A., Trudeau, L. V., 2008: The goldfish (*Carassius auratus*) as a model for neuroendocrine signaling. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 293, 43–56.
- Popov, G., V., 1968: Polučeniye i chraneniye molok belogo amura, belogo i pestrogo tolstolobikov. In: *Novyye issled. po ekol. i razvedeniju rastitel'nojadnykh ryb*. Moskva, pp. 180-186.
- Powell, J. F., Zohar, Y., Elizur, A., Park, M., Fischer, W. H., Craig, A. G., Rivier, J. E., Lovejoy, D. A., Sherwood, N. M., 1994: Three forms of gonadotropin-releasing hormone characterized from brains of one species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91, 12081–12085.
- Putschögl, V., 1973: Zkušnosti s chovem býložravých ryb na odštěpném závodě Státního rybářství v Pohořelicích. *Československé rybníkářství*, 3: 3-6.
- Redding, J. M., Patino, R., Evans, D. H., 1993: Reproductive physiology [of fish]. *CRC Marine science series*. 503-534.
- Richter, C. J. J., Viveen, W. J. A. R., Eding, E. H., Sukkel, M., Rothuis, A. J., Van Hoof, M. F. P. M., Van Oordt, P. G. W. J., 1987: The significance of photoperiodicity, water temperature and an inherent endogenous rhythm for the production of viable eggs by the African catfish, *Clarias gariepinus*, kept in subtropical ponds in Israel and under Israeli and Dutch hatchery conditions. *Aquaculture*, 63, 169-185.
- Schofield, P. J., Williams, J. D., Nico, L. G., Fuller, M. T. 2005: Foreign nonindigenous carps and minnows (Cyprinidae) in the continental United States: a guide to their identification, distribution, and biology. *Scientific Investigations Report 2005-5041*. U.S. Geological Survey, Denver, CO. 104 p.
- Sherwood, N. M., Lovejoy, D. A., 1989: The origin of the mammalian form of GnRH in primitive fishes. *Fish physiology and biochemistry*, 7(1-6), 85-93.

- Sherwood, N. M., Parker, D. B., McRory, J. E., Lescheid, D. W., 1994: Molecular evolution of growth hormone-releasing and gonadotropin-releasing hormone. *Fish Physiology*, Academic Press, 3-66.
- Sherwood, N., Eiden, L., Brownstein, M., Spiess, J., Rivier, J., Vale, W., 1983: Characterization of a teleost gonadotropin-releasing hormone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 80, 2794-2798.
- Shireman, J. V., Smith, C. R., 1983: Synopsis of biological data on the grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Cuvier and Valenciennes, 1844). Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Sokolowska-Mikolajczyk, M., Mikolajczyk, T. 1991): Control of reproduction in Cyprinids. *Rivista Italiana di Acquacoltura*, 26, 209–215.
- Stanley, J. G., Miley, W. W. II., Sutton, D. L., 1978: Reproductive requirements and likelihood for naturalization of escaped grass carp in the United States. *Transactions of the American Fisheries Society*, 107, 119-128.
- Steffens, V., 1985: *Industrijaľnye metody vyrasčivaniya ryby*. Agropromizdat: 86-87.
- Steven, C., 2000: Studies on the GnRH-GtH system of female striped bass (*Morone saxatilis*): effects of GnRH agonist therapy and comparison of reproductive endocrine parameters between wild and captive fish. [M.Sc. Dissertation.] University of Maryland, College Park, USA.
- Steven, C., Gothilf, Y., Holland, M. C. H., Stubblefield, J., Mylonas, C. C., Zohar, Y., 2000: Differential expression of the three GnRH genes in wild and captive striped bass, *Morone saxatilis*, in response to natural nad hormonally induced maturation. p. 66. In: Norberg B., Kjesbu, O. S., Taranger, G. L., Andersson, E., Stefansson, S. O. (eds.): *Reproductive Physiology of Fish*. University of Bergen, Bergen, Norway. 326 pp.
- Stráňai, I., 2000: *Chov rýb*. Vydavateľské a edičné stredisko, Slovenská poľnohospodárka univerzita, Nitra, 195 s.
- Sudova, E., Machova, J., Svobodova, Z., Vesely, T., 2000: Negative effects of malachite green and possibilities of its replacement in the treatment of fish eggs and fish: a review. *Veterinarni medicina*, 52, 527–539.
- Svobodová, Z., Kolářová, J., 2004: A review of the diseases and contaminant related mortalities of tench (*Tinca tinca* L.). *Veterinarni Medicina*, 49, 19–34.
- Szabó, T., Medgyasszay, C., Horváth, L., 2002: Ovulation induction in nase (*Chondrostoma nasus*, Cyprinidae) using pituitary extract or GnRH analogue combined with domperidone. *Aquaculture*, 203, 389-395.
- Tölg, I., 1981: *Fortschritte in der Teichwirtschaft: spezielle Methoden*. Akadémiai Kiadó.
- Trudeau, V. L., 1997: Neuroendocrine regulation of gonadotrophin II release and gonadal growth in the goldfish, *Carassius auratus*. *Reviews of Reproduction*, 2, 55–68.
- Van der Kraak, G., Chang, J. P., Janz, D. M., 1998: Reproduction. In: Evans, D. H. (ed.): *The Physiology of Fishes*. CRC Press LLC, Florida, USA. 465–488 pp.
- Van Oordt, P. G. W. J., Peute, J., 1983: 4 The Cellular Origin of Pituitary Gonadotropins in Teleosts. *Fish physiology*, 9, 137-186.
- Vinogradov, V. K., 1968: Techniques of rearing phytophagus fishes. *FAO Fish. Rep*, 5, 227-243.
- Vinogradov, V., K., 1966: Sovremennoje sostojanije biotekhniki razvedenija i vyrasčivaniya rastitel'nojadnych ryb. In: *Rastitel'nojadnye ryby*, Moskva, pp. 14-29

- Von Ihering, R., 1937: A method for inducing spawning in fish. *The Progressive Fish-Culturist*, 4, 15–16.
- Vovk, P. S., 1966: Opyt razvedeniya belogo amura na eksperimental'noj baze „Aleksandrija“. In: *Rybochoz. ispol'z. Rastitel'nojadnych ryb. Moskva*, pp. 41 – 49.
- Wang, Y., Hu, M., Cheung, S. G., Shin, P. K., Song, L., Wang, W., 2010: Induced ovulation of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) using a combination of a gonadotrop-releasing hormone analogue and domperidone. *Aquaculture Research*, 41, 1243-1249.
- White, R. B., Eisen, J. A., Kasten, T. L., Fernald, R. D., 1998: Second gene for gonadotropin-releasing hormone in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95, 305-309.
- Yadav, M., 2008: *Fish Endocrinology*. Discovery Publishing House, New Delhi, India, 296 pp.
- Yang, H., Tian, L., Huang, J., Liang, G., and Liu, Y., 2013: Dietary taurine can improve the hypoxia-tolerance but not the growth performance in juvenile grass carp *Ctenopharyngodon idellus*. *Fish Physiol. Biochem.* 39: 1071–1078.
- Yaron, Z., Levavi-Zermonsky, B., 1986: Fluctuations in gonadotropin and ovarian steroids during the annual cycle and spawning of the common carp. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2, 75–86.
- Yaron, Z., Sivan, B., 2006: Reproduction. 343–386. In: Evans D.H., Claibourne J.B. (eds.): *The Physiology of Fishes*. CRC Press, Boca Raton. 601 pp.
- Yaron, Z., 1995: Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*, 129, 49–73.
- Yaron, Z., Bogomoinaya, A., Drori, S., Biton, I., Aizen, J., Kulikovsky, Z., Levavi-Sivan, B., 2009: Spawning induction in the carp: past experience and future prospects-a review.
- Yaron, Z., Sivan, B., Drori, S., Kulikovski, Z., 2002: Spawning induction in Cyprinids: hypophyseal and hypothalamic approaches. *Bulletin VÚRH Vodňany* 38 (4): 181-193.
- Yu, K. L., Peter, R. E., 1992: Adrenergic and dopaminergic regulation of gonadotropin-releasing hormone release from goldfish preoptic-anterior hypothalamus and pituitary in vitro. *General and Comparative Endocrinology*, 85, 138–146.
- Yu, K. L., Sherwood, N. M., Peter, R. E., 1988: Differential distribution of two molecular forms of gonadotropin-releasing hormone in discrete brain areas of goldfish (*Carassius auratus*). *Peptides*, 9, 625–630.
- Zohar, Y., 1989: Fish reproduction: Its physiology and artificial manipulation. 65–119. In: Shilo M., Sarig S. (eds.): *Fish Culture in Warm Water Systems*. CRC Press Inc., Florida, USA. 272 pp.
- Zohar, Y., 1988: Gonadotropin releasing hormone in spawning induction in teleosts: Basic and applied considerations. 47–62. In: Zohar Y., Breton B. (eds.): *Reproduction in Fish: Basic and Applied Aspects in Endocrinology and Genetics*. INRA Press, Paris. 236 pp.
- Zohar, Y., Muñoz-Cueto, J. A., Elizur, A., Kah, O., 2010: Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. *General and comparative endocrinology*, 165, 438-455.
- Zohar, Y., Mylonas, C. C., 2001: Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, 197, 99-136.
- Zohar, Y., Mylonas, C. C., 2001: Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, 197, 99-136.

Želtov, J. A., Kražan, S. A., 1977: K voprostu podraščivanija ličinok rastitel'nojadnych ryb na raznyh kormach. In: Itogi i perspekt. rybohoz. ispol'z. rastitel'nojadnych ryb. Kyjev, pp. 55-57.

8. Seznam zkratek

Ab₁ – Ab₅ – jednoleté až pětileté ryby (amur bílý)

CPE – kapří hypofýza

DA – dopamin

DI – dopamin inhibitor

FOM – finální zrání ovocytů

FSH – folikulostimulační hormon

GnRH – gonadotropin uvolňující hormon

GnRH_a – gonadotropin uvolňující hormon – analog

GnRH-R – GnRH receptor

GPCR – receptory spřažené s G – proteinem

GtH – gonadotropní hormony

hCG – choriongonadotropin

LH – luteinizační hormon

mGnRH – savčí gonadotropin uvolňující hormon

PI – plodnostní index

SEM – směrodatná odchylka

sGnRH – lososí gonadotropin uvolňující hormon

9. Seznam příloh

Obr. č.8: Odlov generačních amurů na plné vodě

Obr. č.9: Manipulace s generačními rybami po jejich odlovu

Obr. č.10: Upevňování krátkodobých značek generačním rybám

Obr. č.11: Anestezované jikernačky

Obr. č.12: Odběr vzorku krve z ocasního násadce

Obr. č.13: Manipulace se vzorky krve po jejich odběru

Obr. č.14: Vkládání vzorků krve do odstředivky

Obr. č.15: Odlov a manipulace s jikernačkou před výtěrem

Obr. č.16: Osušování břišních partií a následný výtěr

Obr. č.17: Výtěr jikernačky do suché misky

Obr. č.18: Manipulace s jikernačkou při výtěru do misky

Obr. č.19: Výtěr mlíčáka na jikry v misce

10. Přílohy



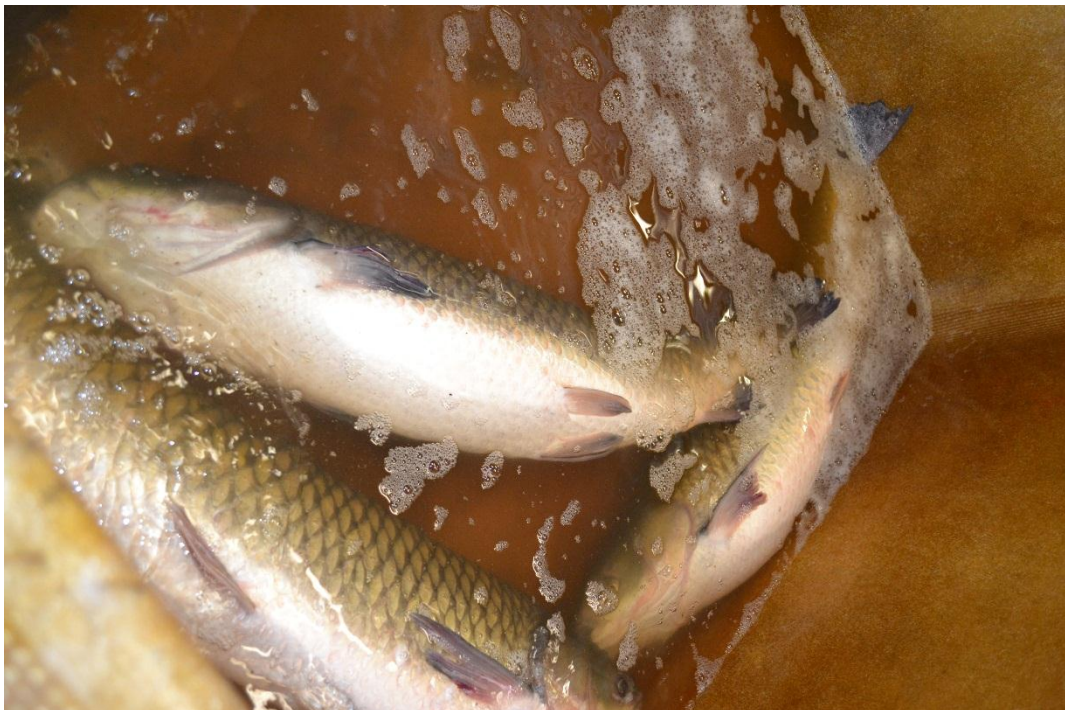
Obr. č.8: Odlov generačních amurů na plné vodě



Obr. č.9: Manipulace s generačními rybami po jejich odlovu



Obr. č.10: Upevňování krátkodobých značek generačním rybám



Obr. č.11: Anestezované jikernačky



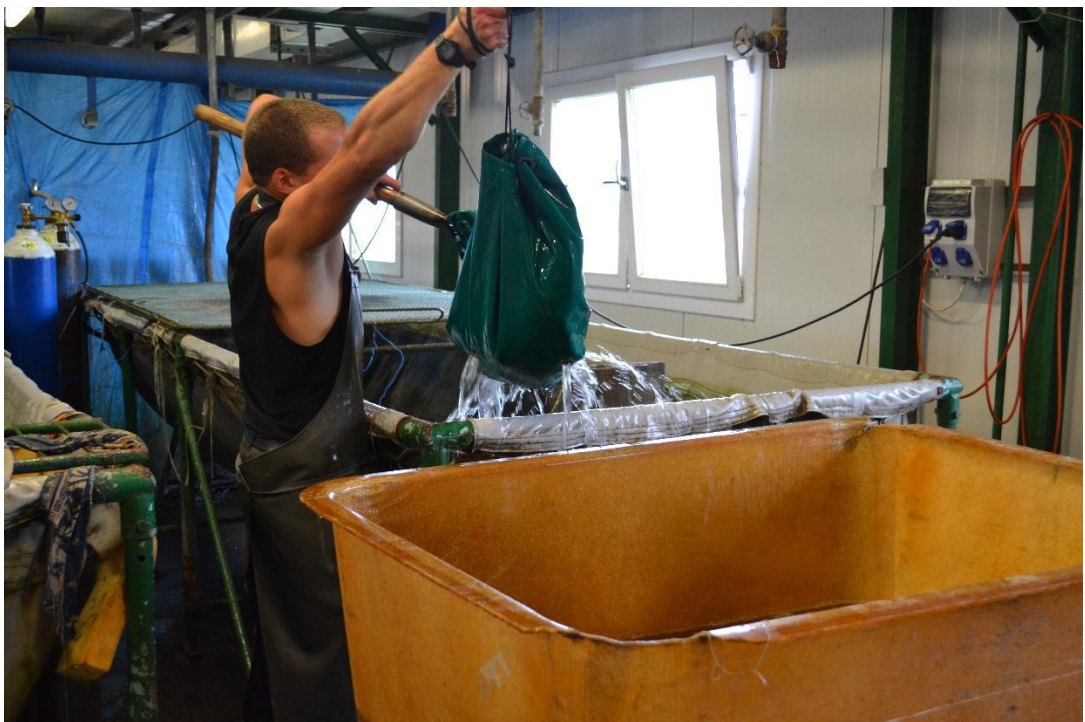
Obr. č.12: Odběr vzorku krve z ocasního násadce



Obr. č.13: Manipulace se vzorky krve po jejich odběru



Obr. č.14: Vkládání vzorků krve do odstředivky



Obr. č.15: Odlov a manipulace s jikernačkou před výtěrem



Obr. č.16: Osušování břišních partií a následný výtěr



Obr. č.17: Výtěr jickernačky do suché misky



Obr. č.18: Manipulace s jikernačkou při výtěru do misky



Obr. č.19: Výtěr mlíčáka na jikry v misce

11. Abstrakt

Hormonální stimulace ovulace amura bílého (*Ctenopharyngodon idella*)

V roce 2015 proběhl experiment s hormonální stimulací ovulace jikernaček u amura bílého s využitím dopamin inhibice na sekreci luteinizačního hormonu (LH), pomocí mGnRHa ([D-Tle⁶, Pro⁹, NEt]-mGnRH), s nebo bez metoclopramidu. Tři experimentální skupiny jikernaček byly injikovány těmito hormonálními přípravky: skupina A – mGnRHa (12,5 µg.kg⁻¹) + metoclopramide (20 mg.kg⁻¹), skupina B – mGnRHa (12,5 µg.kg⁻¹), skupina C – 0,9 % NaCl. U skupiny A injikované mGnRHa s metoclopramidem dosáhla ovulace pouze jedna z jikernaček (14,28 %), plodnostní index byl 5,66 % a oplozenost pouhých 0,1 %. Koncentrace luteinizačního hormonu dosáhla maxima po aplikaci hormonálního přípravku a narozdíl od skupiny B klesala s blížící se ovulací. U skupiny B aplikace čistého syntetického mGnRH vyvolala ovulaci u 57,14 % injikovaných jikernaček amura. Plodnostní index byl 11,25 ± 4,77 % a průměrná oplozenost dosáhla 60,25 ± 11,22 %. Hladina luteinizačního hormonu dosáhla svého maxima až v době těsně před samotnou ovulací.

Výsledky experimentu neprokázaly využití mGnRHa s metoclopramidem jako nejúčinnější. Hladiny LH však prokázaly silnou dopamin inhibici na sekreci LH u tohoto námi zkoumaného druhu.

Klíčová slova: reprodukce, umělá reprodukce, Cyprinidae, dopamin, GnRH, metoclopramide

12. Abstract

Hormonal stimulation of ovulation in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)

In 2015, an experiment with hormonal stimulation of ovulation in grass carp was performed using dopamine inhibition of secretion luteinizing hormone (LH) by mGnRHa ([D-Tle6, Pro9, NEt] -mGnRH), with or without metoclopramide. Three experimental groups of females were injected with the following hormonal preparations: group A - mGnRHa ($12.5 \mu\text{g.kg}^{-1}$) + metoclopramide (20mg.kg^{-1}), group B - mGnRHa ($12.5 \mu\text{g.kg}^{-1}$) Group C - 0.9% NaCl. For group A injected mGnRHa with metoclopramide, ovulation only achieved one of the females (14.28%), the fecundity index was 5.66% and the fertility was only 0.1%. The luteinizing hormone concentration peaked after application of the hormonal preparation and, unlike group B, declined with imminent ovulation. In Group B, the application of pure synthetic mGnRH induced ovulation in 57.14% of injected females. Fecundity index was $11.25 \pm 4.77\%$ and average fertility reached $60.25 \pm 11.22\%$. The level of luteinizing hormone reached its peak only at the time just before ovulation itself.

The results of the experiment did not demonstrate the use of mGnRHa with metoclopramide as the most effective. However, LH levels have shown a strong dopamine inhibition of LH secretion in this species.

Keywords: reproduction, artificial reproduction, Cyprinidae, dopamin, GnRH, metoclopramide